

Nachweis und Charakterisierung von Nanopartikeln in aquatischen Proben: Methodische und apparative Entwicklungen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor/in der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

Fakultät für Chemie

Universität Duisburg-Essen

Dipl.-Chem. Julia Susanne Gebauer

geboren in Bottrop

Essen, August 2013

Vorsitzender der Prüfungskommission: Prof. Dr. Hans-Curt Flemming

1. Gutachter: PD Dr. Lennart Treuel

2. Gutachter: Prof. Dr. Matthias Epple

Tag der Disputation: 13.12.2013

Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel

„Nachweis und Charakterisierung von Nanopartikeln in aquatischen Proben :
Methodische und apparative Entwicklungen ”

selbst verfasst und keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen benutzt habe, und dass die Arbeit in dieser oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Universität eingereicht wurde.

Essen, August 2013

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung.....	4
2. Einleitung.....	6
3. Theoretische Grundlagen.....	14
3.1. Nanopartikel-Synthese und -Stabilisierung	14
3.2. Theorie der Lichtstreuung	19
3.2.1. Rayleigh-Streuung.....	21
3.2.2. Raman-Streuung und der Oberflächenverstärkte-Raman-(SERS)-Effekt	23
3.2.3. Mie-Streuung.....	25
3.3. Nachweis und Charakterisierung von Nanopartikeln in wässrigen Medien.....	28
3.3.1. Optische Detektion der Brown'schen Molekularbewegung.....	30
3.3.2. Dynamische Lichtstreuung	36
3.4. Anwendungen kolloidchemischer Grundlagen auf nanopartikuläre Systeme.....	43
3.4.1. Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek (DLVO)-Theorie.....	43
3.4.2. Auftretende „Nicht-DLVO“-Kräfte.....	53
3.4.3. Agglomerationskinetik	54
3.4.4. Fraktale Agglomerate	58
4. Methoden und apparative Entwicklung	59
4.1. Nanopartikel-Synthesen.....	62
4.1.1. Citrat-stabilisierte Silbernanopartikel - Lee-Meisel-Verfahren.....	62
4.1.2. Citrat-stabilisierte Silbernanopartikel - Natriumborhydrid-Verfahren.....	64
4.2. Brownian-Motion-Nanoparticle-Sizer (BMNS).....	67
4.2.1. Apparativer Aufbau	67
4.2.2. Datenerfassung	69
4.3. Apparatur zur Messung der dynamischen Lichtstreuung (DLS).....	71
4.3.1. Apparativer Aufbau	71
4.3.2. Datenerfassung	76
4.3.3. Validierung des DLS-Systems mit Modellsystemen.....	77
4.4. Dynamic-Particle-Sizer (DPS)	80

4.4.1.	Apparativer Aufbau	80
4.4.2.	Datenerfassung	83
4.4.3.	Validierung des DPS mit bekannten Modellsystemen	84
4.5.	Modellentwicklung zur quantitativen Partikelanalyse	87
4.5.1.	Quantifizierung polydisperser Partikelsysteme	87
4.5.2.	Quantifizierung agglomerierender Systeme	95
5.	Experimentelle Ergebnisse	105
5.1.	Einfluss von ionischen Komponenten auf ladungsstabilisierte Silbernanopartikel.	105
5.1.1	Experimentelle Bestimmung von Kollisionseffizienzen	106
5.1.2.	Agglomerationsstudien mit einfach geladenen Ionen	107
5.1.3.	Agglomerationsstudien in Anwesenheit von Chlorid-Ionen	111
5.1.4.	Agglomerationsstudien mit mehrfach geladenen Ionen	113
5.1.5.	Zusammenfassung der Ergebnisse der Agglomerationsstudien	119
5.2.	Modellstudien zur Wechselwirkung von NPs mit Bestandteilen von Umweltkompartimenten	121
5.2.1.	Einfluss der Protein-Corona auf die Stabilität von Silbernanopartikeln	121
5.2.2.	Entwicklung eines Modells zur Bestimmung der Bindungsaffinität	127
5.2.3.	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	132
5.3.	SERS-Messungen zum Ligandenaustausch von Nanopartikeln.....	133
5.3.1.	Aufbereitung und Funktionalisierung der Nanopartikel.....	134
5.3.2.	Durchführung der SERS-Messungen	135
5.3.3.	Zusammenfassung der SERS-Experimente.....	137
5.4.	Nachweis und Verhalten von Nanopartikeln in realen Umweltproben	138
5.4.1.	Entnahme der Schwimmbadproben.....	138
5.4.2.	Zusammenfassung der experimentellen Analysen	145
5.5.	Verhalten von citrat-stabilisierten Silberkolloiden in realen Gewässern	146
5.5.1.	Entnahme der Gewässerproben	146
5.5.2.	Ionenchromatographische Analyse der Gewässerproben	148
5.5.3.	Agglomerationsstudien in umweltrelevanten Proben.....	151
5.5.4.	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	156

6. Ausblick	157
7. Einheiten und Symbole.....	159
7.1. Fundamentale Konstanten	159
7.2. Einheiten	159
7.3. Dimensionslose Einheiten und Funktionen	160
8. Danksagung	161
9. Literaturverzeichnis	162

1. Zusammenfassung

Die Menge der technisch produzierten Nanopartikel wächst ebenso wie die Zahl ihrer Anwendungen in Materialien mit innovativen Eigenschaften stetig an. Hierdurch geht eine Exposition von Mensch und Umwelt und damit die potentielle Schädigung von Gesundheit und Ökosystemen einher. Nanopartikel finden in vielen alltäglichen Produkten wie zum Beispiel Sonnencremes, Oberflächenveredelungen und Kosmetika ihre Anwendungen. Bedingt durch ihre geringe Größe besitzen diese Partikel eine erhöhte Reaktivität, mit der eine erhöhte Toxizität einhergehen kann. Allerdings sind die verfügbaren Methoden zum Nachweis von Nanopartikeln in wässrigen Medien hinsichtlich ihrer Nachweisgrenze und Spezifität mit erheblichen Einschränkungen verbunden. Deshalb wurden im Rahmen dieser Arbeit methodische und apparative Entwicklungen durchgeführt, um das Verhalten und somit das Vorkommen sowie die möglichen Expositionsrouten von Nanopartikeln in aquatischen Systemen zu quantifizieren und zu charakterisieren.

Hierzu wurde eine Apparatur zur Messung der dynamischen Lichtstreuung (DLS) entwickelt und aufgebaut und mit einem ebenfalls selbst entwickelten Brownian-Motion-Nanoparticle-Sizers (BMNS), welcher Partikelgrößen anhand der thermischen Trajektionspfade bestimmt, kombiniert. Diese vollkommen neuartige Apparatur wurde Dynamic Particle Sizer (DPS) benannt. Mit dem DPS lassen sich nun erstmalig reale Partikelverteilungsbreiten, wie sie auch in Umweltproben zu beobachten sind, zuverlässig untersuchen. Des Weiteren wurde der DPS erfolgreich validiert und es konnte gezeigt werden, dass sowohl die benutzte Laserleistung als auch die beobachtete Partikelkonzentration eine Rolle bei der Charakterisierung von Nanopartikeln spielen.

Mit den entwickelten Systemen wurden Wechselwirkungen von ladungsstabilisierten Silbernanopartikeln in verschiedenen wässrigen Medien mit unterschiedlichen Elektrolyten untersucht. Hierbei bestätigte sich, dass die repulsive Barriere ladungsstabilisierter Partikel durch ionische Komponenten geschwächt oder zerstört wird, wodurch die Bildung von Agglomeraten begünstigt wird. Es konnte zudem gezeigt werden, dass die Ladung des Anions der ionische Komponente einen signifikanten Einfluss auf die Zerstörung der repulsiven Barriere hat. Die untersuchten Systeme zeigten zudem gute Übereinstimmungen mit durchgeführten Simulationen auf Basis der DLVO-Theorie.

Da sich im Brauchwasser üblicherweise nicht nur ionische Komponenten sondern auch Biomoleküle wie Proteine oder Huminstoffe befinden, wurde in einer weiteren Messreihe das Verhalten von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln bezüglich dieser Moleküle untersucht.

Hier konnte exemplarisch gezeigt werden, dass Proteine in der Lage sind, auf Partikeloberflächen zu adsorbieren, wobei sich eine sterische oder elektosterische Stabilisierung auf der Nanopartikeloberfläche bildet. Zudem konnte gezeigt werden, dass das gut bekannte Protein Humanes-Serum-Albumin (HSA) Monolagen auf dem untersuchten Kolloid bildet und dieses somit aufgrund der entstehenden sterischen oder elektosterischen Stabilisierung gegen ionische Komponenten stabilisiert. Ebenfalls konnte eine neue Methode entwickelt werden, um Bindungsaffinitäten von Proteinen auf nanopartikulären Oberflächen anhand der Hemmung der detektierten Agglomerationsgeschwindigkeit präzise zu bestimmen. Um den Verlauf einer solchen Liganden-Austausch-Reaktion besser charakterisieren zu können, wurde exemplarisch der auf der nanopartikulären Oberfläche stattfindende Austausch von Citrat und TPPTS mit der Methode der oberflächenverstärkten Raman-Spektroskopie untersucht.

Nachdem die möglichen Wechselwirkungen von Nanopartikeln mit aquatischen Systemen genau bestimmt wurden, wurde das Verhalten und das Vorkommen von Nanopartikeln in Brauch- und Umweltgewässern untersucht. Hierzu wurde eine neue Methode entwickelt, um die absolute Nanopartikelkonzentration pro Volumeneinheit anhand der Anzahl der detektierten Nanopartikel in der Beobachtungsebene zu bestimmen.

Da Schwimmbäder aufgrund des Abwaschens von Sonnencremes eine erhöhte Partikelkonzentration besitzen sollten, wurden zur Testung der Methode drei exemplarisch gewählte Schwimmbäder auf partikuläre Komponenten untersucht. Hier konnten tatsächlich Partikel in einem Größenbereich von 100 nm beobachtet werden. Allerdings konnte aufgrund der geringen Konzentration das Material nicht identifiziert werden. Somit konnten keine Aussagen darüber gemacht werden, ob die beobachteten Partikel natürlichen oder anthropogenen Ursprungs waren. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass die entwickelte Methode auch in sehr schwach konzentrierten partikulären Suspensionen zur Charakterisierung von Nanopartikeln angewandt werden kann und somit eine niedrigere Detektionsgrenze als herkömmliche Analysemethoden, wie zum Beispiel ICP-MS/-OES, besitzt.

Abschließend wurde das Verhalten in realen Gewässerproben untersucht und es konnte ein Verfahren entwickelt werden, welches es ermöglicht, das Verhalten von bekannten ladungsstabilisierten partikulären Suspensionen in realen Gewässern anhand der vorkommenden Ionen-Konzentrationen mit den aus der DLVO-Theorie resultierenden Annahmen abzuschätzen.

2. Einleitung

Der Begriff „nano“ leitet sich aus dem griechischen Wort „nannos“ ab, welches „Zwerg“ oder auch „zwergenhaft“ bedeutet. Definitionsgemäß kann von einem Nanopartikel gesprochen werden, wenn ein Verbund von Atomen eine Dimension zwischen 1 und 100 nm besitzt⁽¹⁾.

Schon seit langer Zeit existieren Nanopartikel in unserer Umwelt. Zuerst wurden diese als Rauchkomponenten durch Vulkane emittiert. Diese sehr kleinen Partikel waren natürlichen Ursprungs und bestanden zum größten Teil aus Kohlenstoff. Natürliche Nanopartikel entstehen hauptsächlich durch unvollständige Verbrennungsprozesse^(2,3). So finden sich nanopartikuläre Materialien beispielsweise in Rußablagerungen von Waldbränden. Aber auch in der Asche von Vulkanausbrüchen lassen sich Nanopartikel finden. Eine weitere natürliche Quelle für Nanopartikel bilden Wüstenstürme, bei denen häufig so viel Mineralstaub über die Meere geweht wird, dass diese auch noch vom Weltraum aus beobachtet werden können⁽⁴⁾.

Nanostrukturen kommen ebenfalls häufig in unserer Natur vor. So sind die Füße des Geckos mit kleinen Nanolamellen ausgestattet, die es ihm ermöglichen, nur durch die entstehenden van-der-Waals Kräfte auf sehr glatten Oberflächen wie zum Beispiel Glas zu haften⁽⁵⁾. Schmetterlinge besitzen nanostrukturierte photonische Kristalle⁽⁶⁾, um ihren Wärmehaushalt zu regulieren und auch der mittlerweile gut bekannte Lotuseffekt lässt sich auf nanoskalige Strukturen zurückführen⁽⁷⁾. Die zur Fortbewegung von Bakterien (Prokaryoten) wichtigen Geißeln bestehen aus Eiweiß und besitzen einen Durchmesser von 15-20 nm⁽⁸⁾. Ebenso besitzen in der Milch befindliche native Micellen Größenordnungen, welche im Nanometerbereich anzusiedeln sind⁽⁹⁾. Dies sind nur einige Beispiele des natürlichen „Nanokosmos“, ohne den die Natur vollkommen anders erscheinen und funktionieren würde.

Im Jahre 1959 hielt der Physiker Richard Feynman in Kalifornien den Vortrag „There's Plenty of Room at the Bottom“, in dem er als Erster die Vision der Manipulation von Materie auf atomarer Ebene beschrieb. Dieser Vortrag wird häufig als Wegbereitung der Nanotechnologie angesehen. Zu diesem Zeitpunkt existierten allerdings keine technischen Mittel, die seine Annahmen belegen konnten.

Die erste richtige Definition des Wortes „Nanotechnologie“ wurde dann 1974 von Norio Taniguchi, welcher zu diesem Zeitpunkt an der Universität in Tokio tätig war, formuliert.

"Nano-technology' mainly consists of the processing of separation, consolidation and deformation of materials by one atom or one molecule."⁽¹⁰⁾

Später im Jahre 1981 konnten anhand der Entwicklung des Rastertunnelmikroskops durch Binning und Rohrer⁽¹¹⁾ zum ersten Mal Atome sichtbar gemacht und gezielt positioniert werden. Kurze Zeit darauf begann man mit den ersten Versuchen, die Nanotechnologie für bestimmte Zwecke einzusetzen. Bedingt durch diese Entdeckung existieren heutzutage neben den natürlich vorkommenden Nanopartikeln noch viele weitere anthropogen erzeugte Nanopartikel-Spezies, deren Formen und Materialeigenschaften nicht natürlichen Ursprungs sind.

Diese anthropogen erzeugten Nanopartikel finden bereits ein enormes Spektrum an unterschiedlichen Anwendungen. Der Einsatz von nanopartikulären Materialien reicht von Lebensmitteladditiven bis hin zu katalytisch wirksamen Zusätzen. Silbernanopartikel werden beispielsweise als antibakterielle Oberflächenbeschichtungen und Zusätze in Kühlschränken, klinischen Instrumenten, Textilien und Reinigungsmitteln eingesetzt. Titan- oder auch Zink-Oxid-Partikel finden ihre Anwendungen in Kosmetika, wie zum Beispiel in Sonnencremes, als blockierendes Additiv⁽¹²⁻¹⁴⁾. Nanopartikel werden aber auch (um bessere Fließ- und Rieseigenschaften zu erzielen) als Lebensmittelzusätze in Ketchup oder Salz verwendet. Platin- und Rubidium-Nanopartikel sind Bestandteile von oxidkeramischen Trägern in Katalysatoren. Kohlenstoffnanoröhrchen finden ihre Anwendungsgebiete beispielsweise in Tennisschlägern, wo sie zu einer besseren Haltbarkeit führen. Sie werden aber auch in Computertransistoren angewandt, wo sie mit ihrer kleinen Beschaffenheit und erhöhten Leitfähigkeit einen entscheidenden Vorteil gegenüber herkömmlichen Transistoren bieten.

Ein weiteres sehr großes Gebiet der Nanotechnologie ist ihre Anwendung in der Medizin. Hier versprechen Nanopartikel bedeutende Fortschritte in vielen Bereichen. Hierzu zählen etwa Kontrastmittel und Arzneimittelträger, aber auch neue Entwicklungen in der Krebstherapie. Nanopartikel sollen zukünftig auch in verschiedenen Bereichen umwelttechnischer Problemstellungen angewandt werden. Ein Bereich, in dem nanopartikuläres Material bereits verwendet wird, ist die Anwendung in Autoabgaskatalysatoren. Hier reduzieren nanopartikuläre Beschichtungen den Ausstoß von CO und NO_x um circa 90%⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. In nächster Zeit sind zudem viele weitere katalytische

Anwendungsbereiche möglich, um unerwünschte Nebenprodukte und Energieverbräuche bei industriellen Prozessen zu minimieren⁽¹⁸⁻²⁰⁾. Auch Membranen zur Filtrierung und Wasseraufbereitung, wie zum Beispiel zur Entfernung von Umweltgiften und Rückständen pharmazeutischer Erzeugnisse^(21,22), sind momentan Gegenstand aktueller Forschung. Außerdem sind Anwendungen in herkömmlichen Lacken und Legierungen denkbar. Hier könnten Nanopartikel zukünftig Schwermetalle ersetzen, Materialeigenschaften verändern und ebenfalls die Energieverbräuche von Herstellungsprozessen minimieren⁽¹⁷⁾.

Die Liste an unterschiedlichen Anwendungsmöglichkeiten ist lang. Die in den letzten Jahren beobachtbare exponentielle Zunahme der unterschiedlichen nanopartikelbeinhaltenden Produkte ist in folgender Illustration dargestellt:

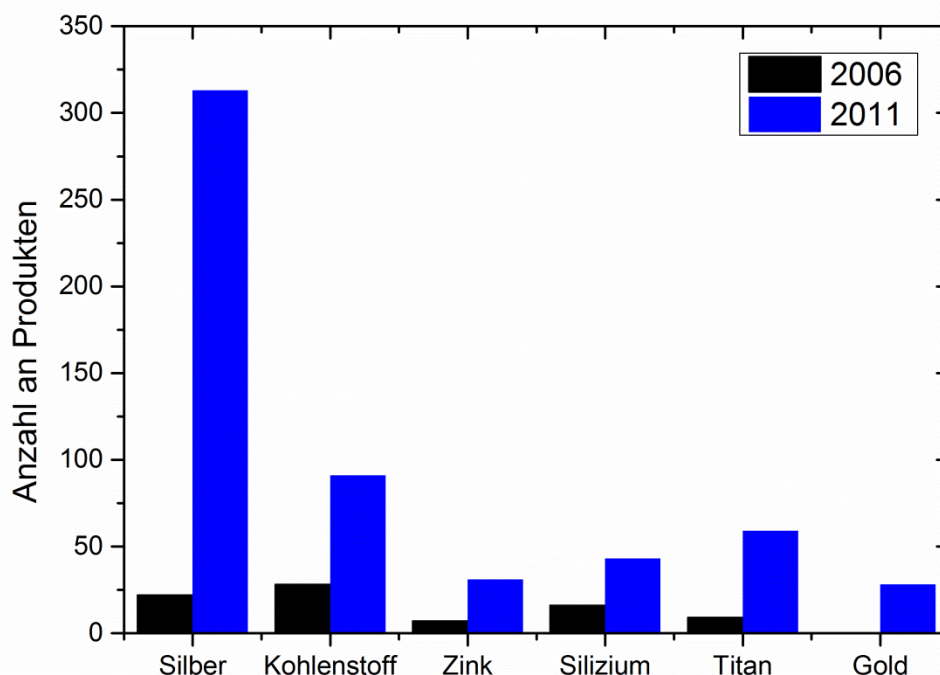


Abbildung 1: Anzahl an unterschiedlichen kommerziell erhältlichen Nanoprodukten in den Jahren 2006 und 2011⁽²³⁾.

Diese Zunahme geht zudem mit einer erhöhten Produktionsrate nanopartikulärer Komponenten einher. Folgend ist ein tabellarischer Überblick über die momentan verbreitetsten Anwendungsbereiche von nanopartikulären Materialien dargestellt.

Tabelle 1: Kommerzielle Produkte die nanopartikuläres Material enthalten^(17,24).

Bereich	Nanoskalige Partikel	Produkte	Zweck
Kosmetik	Titandioxid Zinkoxid	Sonnenschutzpräparate, Hautcreme	UV-Schutz
	Aluminiumoxid	Haarpflegemittel	Stabilisator
	Calciumphosphat	Zahncreme	biomimetischer Wirkstoff
	Silber	Zahncreme, Duschgel, Handcreme, Deodorant	antibakterielle Wirkung
	Gold	Nachtcreme	Marketing
	Platin	Antifaltencreme	Marketing
Nahrungsmittel	Siliziumdioxid	Raffinierte Speisesalze, Hart- und Schmelzkäse, Ketchup	Rieselfähigkeit, Sämigkei,t Haftfähigkeit
	Titandioxid	Zuckerguss, Bonbons, Kaugummi	Farbstoff
Lebensmittelkonservierung	Titandioxid	Frischhaltefolien	Feuchtigkeitsverlust, Sauerstoffeintrittsminderung, UV-Schutz
	Siliziumdioxid	PET-Flaschen	Diffusionssperre
Papier	Titandioxid	Dekor- und Zigarettenpapier	Erhöhung der Opazität
Farben	Titandioxid	Holzfarben, Lacke, Autolacke	UV- und Korrosionsschutz, Kratzfestigkeit
Sanitärkeramik	Siliziumdioxid Aluminiumoxid	Waschbecken, Badewannen, WCs, Duschen, Fliesen	Oberflächenveredelung
Pharmabereich und Medizin	Siliziumdioxid	Tabletten, Kapseln, Salben, Wundsprays	Wirkstofftransporter oder -depot
	Polymer-, Silber und andere metallische Partikel	Implantate, Prothesen	antibakterielle Wirkung, Oberflächenglättung, Kontrastmittel
Landwirtschaft	Pestizide in Nanokapseln	Bayer Crop Sience, Syngenta	Schädlingsbekämpfung
Automobil	„carbon black“ (Industrieruß)	Autoreifen	Haftungsverbesserung, Verschleißreduzierung
	Kupfer	Schmiermittel	Verschleißreduzierung
	Platin, Palladium	Katalysatoren	Emissionsminderung
Textilien	Silber	Kleidung, Schuhsohlen	antibakterielle Wirkung
	Silikonschichten, Anatas Fasern (TiO ₂)	All-Wetter-Stoffe (Outdoor-Kleidung)	Textilveredelung
Informations- und Kommunikationstechnik	Silizium	elektronische Bauelemente	mehr Leistung, weniger Ressourcenverbrauch
Sport	Nanotubes (CNT)	Tennis- und Golfschläger	größere Stabilität

Aufgrund der enormen Vielzahl unterschiedlicher Anwendungen und kommerzieller Produkte besteht ein erhebliches Eintragspotential in Umweltkompartimente. Die folgende Grafik soll mögliche Expositionsrouten verdeutlichen:

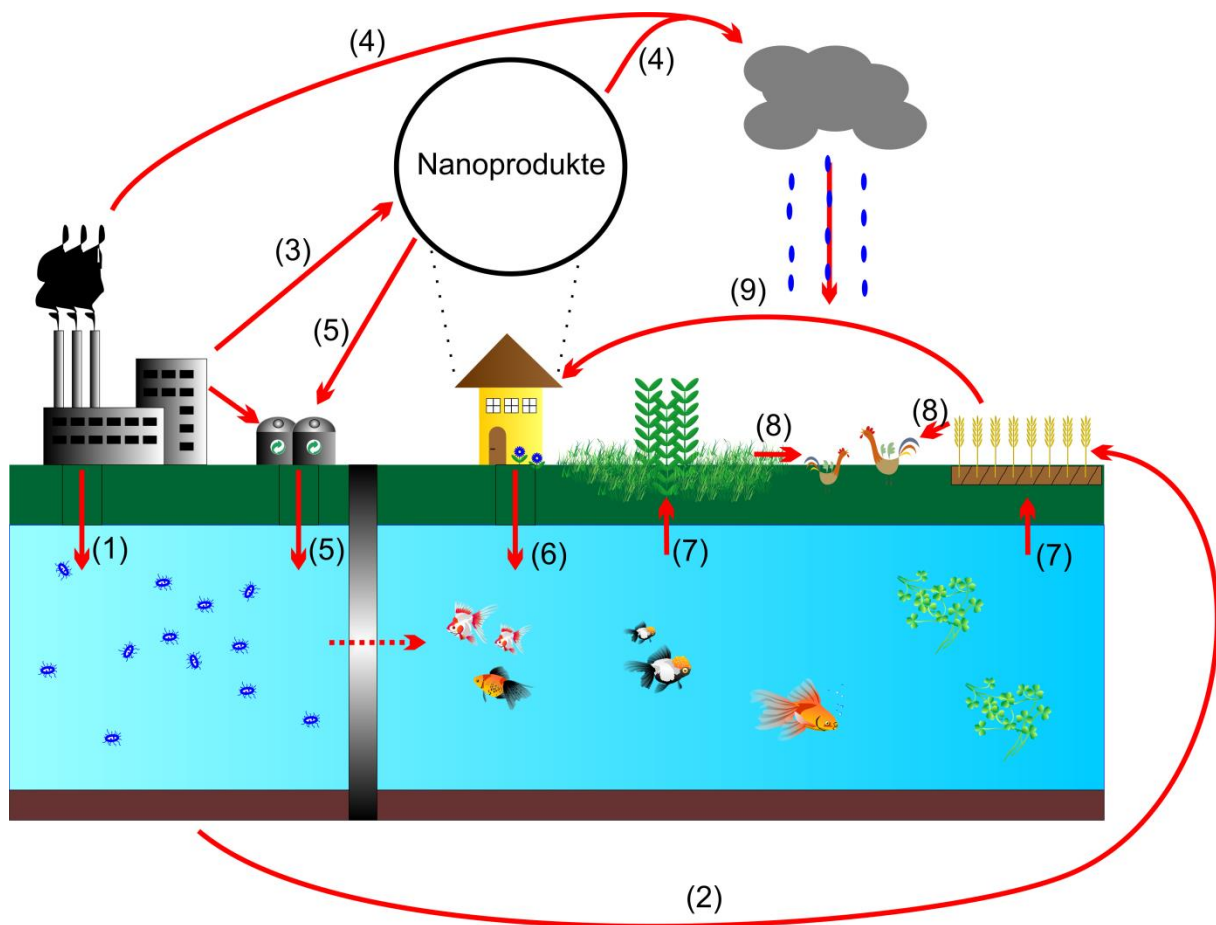


Abbildung 2: Potentielle Eintragsrouten nanopartikulärer Materialien.

Zunächst werden Nanopartikel industriell hergestellt. Dabei gelangen sie vorerst nicht direkt in die Umwelt, besitzen aber aufgrund ihrer geringen Größe das Potential, Abwässer- und Filteranlagen (1) zu passieren⁽²⁵⁾. Auch wenn die in Kläranlagen eingetragenen Nanopartikel in dieser verbleiben, stellen sie ein potentielles Problem dar. Nanopartikel wirken nachweislich toxisch auf Mikroorganismen⁽²⁶⁻²⁸⁾ und können zu einer Abtötung dieser Organismen führen. Dies würde das empfindliche Gleichgewicht der betroffenen Kläranlage stören. Eine weitere mögliche Expositionsrout stellt die Akkumulation der Partikel im Klärschlamm dar. Da Klärschlämme häufig als Düngemittel für landwirtschaftliche Betriebe eingesetzt werden⁽²⁹⁾, können die Partikel über diese Route erneut in die Umwelt freigesetzt werden (2). Viele der produzierten Nanopartikel gelangen zudem in den Haushalt, sei es beispielsweise als sogenannte „Silber-Ionen“ in Deo-Sprays, als Silbernanoartikel in

Imprägnier-Sprays oder auch als Titandioxidpartikel in Kosmetika (3). Diese Produkte können bei der Herstellung und beim Verbrauch (z. B. Deo-Sprays) direkt in die Luft emittiert werden (4). Zudem können Nanopartikel durch das Abwaschen von Kosmetika und von beschichteten Oberflächen oder auch direkt durch im Haushalt entsorgte Nanoprodukte die Umwelt erreichen (5). Gelangen die Partikel in Böden, so könnten diese ebenfalls durch Auswaschungen in natürliche Gewässer gelangen, wo sie sowohl Mikroorganismen als auch größeren Organismen schaden können (6). Sind die Partikel einmal in den Gewässern angekommen, entstehen erneute mögliche Expositionsrouten, wie zum Beispiel das Eindringen in tiefere Bodenschichten und der darauf folgende Eintrag ins Grundwasser. Die Partikel könnten dann in Pflanzen akkumulieren (7), was letztendlich zu einer Anreicherung in der Nahrungskette von Tieren (8) und Menschen (9) führen würde. Dies würde letztendlich den Kreislauf zurück zum Menschen schließen.

Im Gegensatz zu den natürlich vorkommenden Nanopartikeln bilden sowohl beabsichtigt als auch unbeabsichtigt anthropogen erzeugte Nanopartikel eine Emissionsquelle. Bei unbeabsichtigt erzeugten Nanopartikeln handelt es sich meist um sogenannte „ultrafeine Stäube“, welche durch industrielle Prozesse aber auch durch Verbrennungsmotoren und Reifenabrieb in die Umwelt gelangen^(30,31). Per Definition handelt es sich um einen ultrafeinen Staub, wenn die Korngröße des aerodynamischen Durchmessers 100 nm nicht überschreitet⁽³²⁾. Bedingt durch die geringe Größe dieser „ultrafeinen Partikel“ bilden sie gut 2/3 der Gesamtanzahl aller Umweltpartikel, wobei ihre extrem kleine Masse nur etwa 0,7% der Gesamtmasse des Umweltstaubs beträgt. Wie groß hierbei der Anteil von anthropogen erzeugten und natürlich entstandenen Partikeln ist, ist allerdings noch weitestgehend ungeklärt^(32,33).

Ein großer Anteil kommerzieller Nanopartikelprodukte entfällt auf Nanosilber, wobei die weltweite Produktion dieser Nanopartikel auf über 500 t/a geschätzt wird⁽³⁴⁾. Obwohl Silbernanopartikel abgesehen von geringfügigen Emissionen während der Herstellung von Produkten nicht direkt in die Umweltkompartimente emittiert werden, werden diese aufgrund des Auswaschens und des Einleitens in Abwässer aber auch durch das Wegwerfen von Produkten, welche nanopartikuläres Material enthalten, in aquatische Kompartimente eingetragen.

Ein weiteres Beispiel eines unbeabsichtigten Eintrags besteht im Falle von Platin- und Rubidium-Nanopartikeln. Diese Katalysatorbestandteile werden über den thermischen und mechanischen Abrieb mit den Abgasen emittiert und schließlich auf der Fahrbahndecke und

auf straßennahen Böden deponiert. Die Platin-Konzentrationen in Stäuben viel befahrener Straßen erreichen punktuell schon heute niedrige ppm-Bereiche, wobei der Anteil des metallischen Platins gegenüber gebundenem Platin auf 10-30% geschätzt wird⁽³⁵⁾. Zudem bilden Dieselmotoren eine weitere signifikante mobile Quelle für Nanopartikel, da hier durch Verbrennung erzeugte Partikel direkt in die Luft emittiert werden⁽³⁶⁾.

Während der Eintrag verschiedener Nanopartikel in die Abwässer von Kommunen und Krankenhäusern wahrscheinlich ist, bleibt bisher unklar, ob die so eingetragenen Nanopartikel die konventionellen Kläranlagen passieren und damit in die offenen Ökosysteme (einschließlich der Grundwässer) gelangen können. Erste Untersuchungen mit oxidischen Nanopartikel haben das Potential für das Passieren von Kläranlagen gezeigt⁽²⁵⁾. Es ist davon auszugehen, dass aktive Oberflächen wie Biofilme aufgrund ihres Sorptionsvermögens eine Senke für Nanopartikel darstellen. Da diese aber nicht abgebaut werden können, bilden Biofilme bei ihrem Zerfall dann eine neue Quelle⁽²⁾.

Nanopartikel befinden sich in derselben Größenkategorie wie Biomoleküle, Proteine und Enzyme. Aufgrund dieser sehr geringen Größe unterscheiden sie sich drastisch von ihren Bulk-Materialien der gleichen chemischen Zusammensetzung. Sie besitzen veränderte physikalische und chemische Eigenschaften, wie Schmelzpunkt und Dichte, aber auch ihre magnetischen, optischen und elektronischen Eigenschaften sind verschieden von denen der reinen Bulk-Komponenten. Außerdem besitzen sie, bedingt durch ihre sehr viel größere spezifische Oberfläche, signifikante Unterschiede zu Bulk-Materialien und können andere elektronische und morphologische Strukturen oder auch selektive Oberflächenfunktionalisierungen besitzen^(1,17).

Darüber hinaus ist bekannt, dass sie biologische Membranen penetrieren^(37,38), in Zellen und Zellkerne eindringen⁽³⁹⁻⁴³⁾ und wichtige biologische Funktionen beeinflussen können. Eine Reihe von toxikologischen Untersuchungen haben gezeigt, dass Nanopartikel zytotoxisch sein können^(44,45), mitochondriale Funktionen beeinflussen⁽⁴⁶⁾, zu oxidativem Stress führen und Entzündungsmediatoren aktivieren können^(45,47).

Nanopartikel können neben den negativen Auswirkungen auf den menschlichen Organismus natürlich auch Auswirkungen auf unsere Ökosysteme besitzen. Dies konnte bereits durch eine Vielzahl von Studien belegt werden. Beispielsweise demonstrierte eine *in-vivo* Studie der Exposition von Zebrafisch-Embryonen mit Silbernanopartikeln, dass Silbernanopartikel in der Lage sind, die Haut des Embryos zu penetrieren. In der Folge wurden Mutationen und bei

höheren Konzentrationen sogar das Absterben der Embryonen beobachtet⁽⁴⁸⁾. Wie in *in-vitro* Untersuchungen an Fischzellen nachgewiesen werden konnte, besitzen Titandioxid- und Zinkoxid-Partikel das Potential, in Zellen zu diffundieren und in Verbindung mit UV-A-Strahlen oxidative Schäden der Zell-DNA herbeizuführen⁽⁴⁹⁾. Ebenso konnten Federici et al.⁽⁵⁰⁾ durch Titandioxid-Nanopartikel initiierte Gewebeveränderungen bei Regenbogenforellen beobachten. Weitere Studien zeigten, dass zum Beispiel Polystyrolpartikel das Fressverhalten von Fischen entscheidend beeinflussen können⁽⁵¹⁾. Neben Vertebraten zeigen nanopartikuläre Materialien auch schädigende Wirkungen an Invertebraten^(52,53), Mikroorganismen⁽⁵⁴⁾ und an Protozoen⁽⁵⁴⁾.

Nanopartikel bieten neben Risiken auch große Chancen und werden vermutlich ihr volles Potential erst in den folgenden Jahren offenbaren. Der Umgang mit diesen neuen Materialien sollte allerdings definiert und kontrolliert erfolgen, um unerwünschte Effekte, die durch Akkumulierung und Dispergierung in natürlichen und urbanen Systemen entstehen, zu reduzieren. Ebenso bleibt unklar, wie sich die Partikel in Gewässern verhalten. Die Kombinationen aus unterschiedlichen anthropogenen und natürlichen Nanopartikeln mit den verschiedenen chemischen Zusammensetzungen von Steh- und Fließgewässern bilden eine enorme Anzahl an Wechselwirkungsmöglichkeiten. Das Verhalten einer Nanopartikelfraktion in einem aquatischen Lebensraum hängt von der chemischen Komposition, Masse, Partikelanzahl, Oberfläche, Verteilungsbreite (monodispers oder polydisperse Verteilung), Stabilisierung, Oberflächenladung, Material und der Hydrophobie/philie der einzelnen Partikel ab⁽⁵⁵⁾.

Zum jetzigen Zeitpunkt existieren kaum Daten zum Vorhandensein und Verbleib von Nanopartikeln in aquatischen Systemen⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾. Dies liegt vor allem an der geringen Anzahl vorhandener quantitativer Analysetechniken⁽²⁾. Durch die steigende Anzahl verschiedenster industrieller und privater Anwendungen ist der Eintrag dieser Partikel in natürliche Gewässer jedoch sehr wahrscheinlich. Die Immission, die Speicherung, die Mobilität und die Wirkung in bzw. auf die Ökosysteme sind jedoch noch nicht hinreichend aufgeklärt und benötigen weiteren Forschungsbedarf⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾. Hierbei ist es besonders wichtig, neue Systeme zur Charakterisierung und Quantifizierung von Nanopartikeln in Umweltsystemen zu entwickeln.

Ziel dieser Arbeit sind daher neue methodische und apparative Entwicklungen, um die Exposition und die Mobilität von Nanopartikeln in Umweltsystemen präziser erfassen und einschätzen zu können und um die Gefährdungen aquatischer Systeme durch Nanopartikel besser bewerten zu können.

3. Theoretische Grundlagen

3.1. Nanopartikel-Synthese und -Stabilisierung

Die Herstellung von Nanomaterialien lässt sich grundsätzlich in zwei übergeordnete Verfahren einteilen, den sogenannten „Top-Down“- und den sogenannten „Bottom-Up“-Mechanismus.

Der „Top-Down“-Mechanismus ist ein Verfahren, in dem makroskopisches Material bis hin zum nanopartikulären Maßstab verkleinert wird⁽⁵⁸⁾. Dies kann entweder über mechanischen Abrieb, zum Beispiel durch mahlen^(59,60), oder aber auch durch Laserablation erfolgen⁽⁶¹⁻⁶³⁾. Der „Bottom-Up“ Mechanismus hingegen beschreibt die Bildung von Nanopartikeln durch Synthese und Selbstorganisation molekularer Bausteine. Hier lässt sich zwischen Gasphasen- und Flüssigphasenprozessen unterscheiden. Gasphasenprozesse finden in sogenannten Flammen-^(64,65), Plasma-⁽⁶⁶⁾, Laser- und Heißwandreaktoren⁽⁶⁷⁾ statt. Das Verfahren der Laserablation kann sowohl in der Gas- als auch in der Flüssigphase angewandt werden⁽⁶²⁾.

Eine weitere Möglichkeit bietet der Fällungsprozess von Nanopartikeln in der flüssigen Phase. Hierzu werden Metallsalze in einer wässrigen Lösung mit einem stabilisierenden Zusatz vorgelegt. Anschließend wird ein Reduktionsmittel zur Initiierung der Fällungsreaktion hinzugegeben. Die Metall-Ionen werden dabei oxidiert und es bildet sich, bedingt durch Diffusion und Ostwald-Reifung⁽⁶⁸⁾, eine kolloidale Lösung^(69,70). Größe und Form der resultierenden Kolloide können durch Temperatur, Konzentration der Reaktanden, pH-Wert und Durchmischungsstärke variiert werden. Es wird angenommen, dass der hier vorherrschende Bildungsmechanismus auf dem 1950 von LaMer⁽⁷¹⁾ postulierten Modell beruht.

LaMer stellte folgenden Wachstumsmechanismus für die Herstellung monodisperser Schwefel-Hydrossole auf⁽⁷¹⁾:

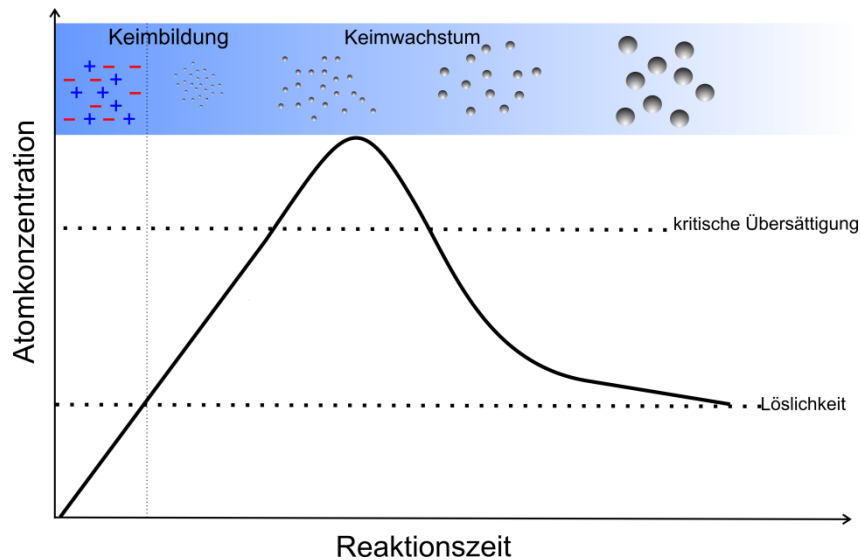


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Partikelwachstumsmechanismus in Fällungsmechanismen in der flüssigen Phase (nach LaMer⁽⁷¹⁾).

Zunächst sind nur die einzelnen Metall-Ionen der Ausgangsverbindung in der Lösung vorhanden. Anschließend wird die Bildung von Kristallisationskeimen durch die Zugabe eines Reduktionsmittels initiiert. Die Konzentration dieser Kristallisationskeime steigt nun weiter an und überschreitet schließlich den Sättigungspunkt und den kritischen Übersättigungspunkt der Lösung. Hier erfolgt eine spontane Bildung von Metallclustern, welche auf Kosten der Atomanzahl zu wachsen beginnen. Aufgrund dieses Keimbildungsprozesses verringert sich die Konzentration der in der Lösung befindlichen Metallatome. Dies geschieht so lange, bis letztendlich die Sättigungskonzentration der Lösung erneut erreicht wird. An diesem Punkt befindet sich das System im Gleichgewicht und es bilden sich keine neuen Kristallisationskeime⁽⁷¹⁾.

Die so gebildeten Nanopartikel haben aufgrund ihrer sehr großen spezifischen Oberfläche eine große Oberflächenenergie. Das System ist bestrebt, diese Energie zu verringern und einen thermodynamisch günstigeren Zustand einzunehmen. Dies führt letztendlich zu einer Agglomeration der vorhandenen nanopartikulären Kolloide. Um dies zu verhindern, werden der Syntheselösung stabilisierende Liganden hinzugefügt. Durch den Zusatz dieser auf der Oberfläche der Partikel adsorbierenden Liganden kann entweder eine sterische, elektrostatische oder auch eine elektrosterische Stabilisierung erfolgen. Die Wahl der

adsorbierenden Moleküle bestimmt allerdings nicht nur den Grad der Stabilisierung, sondern bietet auch eine Passivierung oder/und eine Funktionalisierung der Oberfläche⁽⁷²⁾.

Bei einer sterischen Stabilisierung werden voluminöse, langkettige Moleküle auf der nanopartikulären Oberfläche adsorbiert⁽⁷²⁾. Hierzu werden beispielsweise Polymere oder Tenside eingesetzt^(41,73). Ebenfalls können auch biologische Moleküle wie DNA, Peptide, Proteine, Antigene oder Streptavidine eine stabilisierende Wirkung auf kolloidale Suspensionen zeigen und finden somit ebenfalls Anwendungen als stabilisierende Agenzien^(74,75).

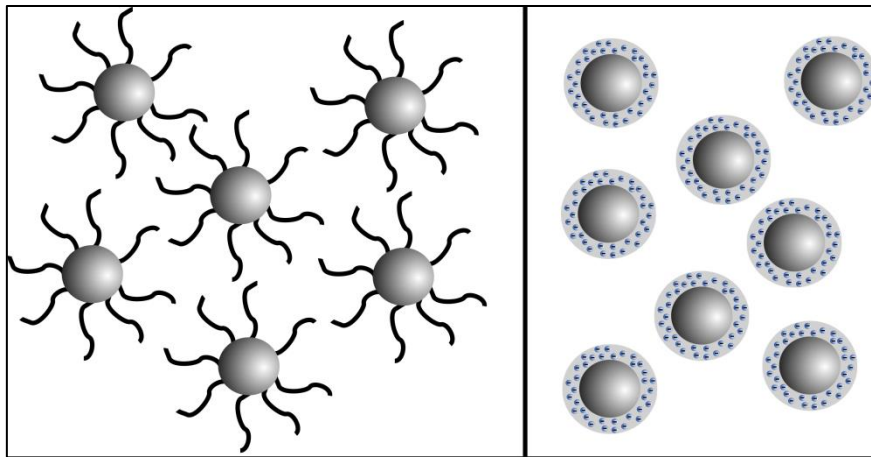


Abbildung 4: Schematische Darstellung einer sterischen (links) und einer elektrostatischen (rechts) Partikelstabilisierung.

Im Gegensatz zur sterischen Stabilisierung werden bei der elektrostatischen Stabilisierung Liganden gleicher Ladung auf der Nanopartikeloberfläche adsorbiert. Je nach Größe dieser adsorbierten Liganden kann es hierbei zu einer Kombination aus sterischer und elektrostatischer Stabilisierung kommen⁽⁷²⁾. Eine detaillierte Erläuterung der kolloidalen Stabilisierung findet sich im Abschnitt 3.4. dieser Arbeit.

Die auf der partikulären Oberfläche vorhandenen Liganden sowie die morphologische Struktur bestimmen zudem die möglichen Wechselwirkungen der einzelnen kolloidalen Partikel mit anderen Konstituenten. Die adsorbierten Moleküle können daher die metabolische Aufnahme, die Toxizität und die Stabilität der Nanopartikel entscheidend beeinflussen⁽⁷⁶⁾.

Die Komplexität dieser möglichen partikulären Wechselwirkungen wird durch folgende schematische Darstellung anhand von Proteinen gezeigt:

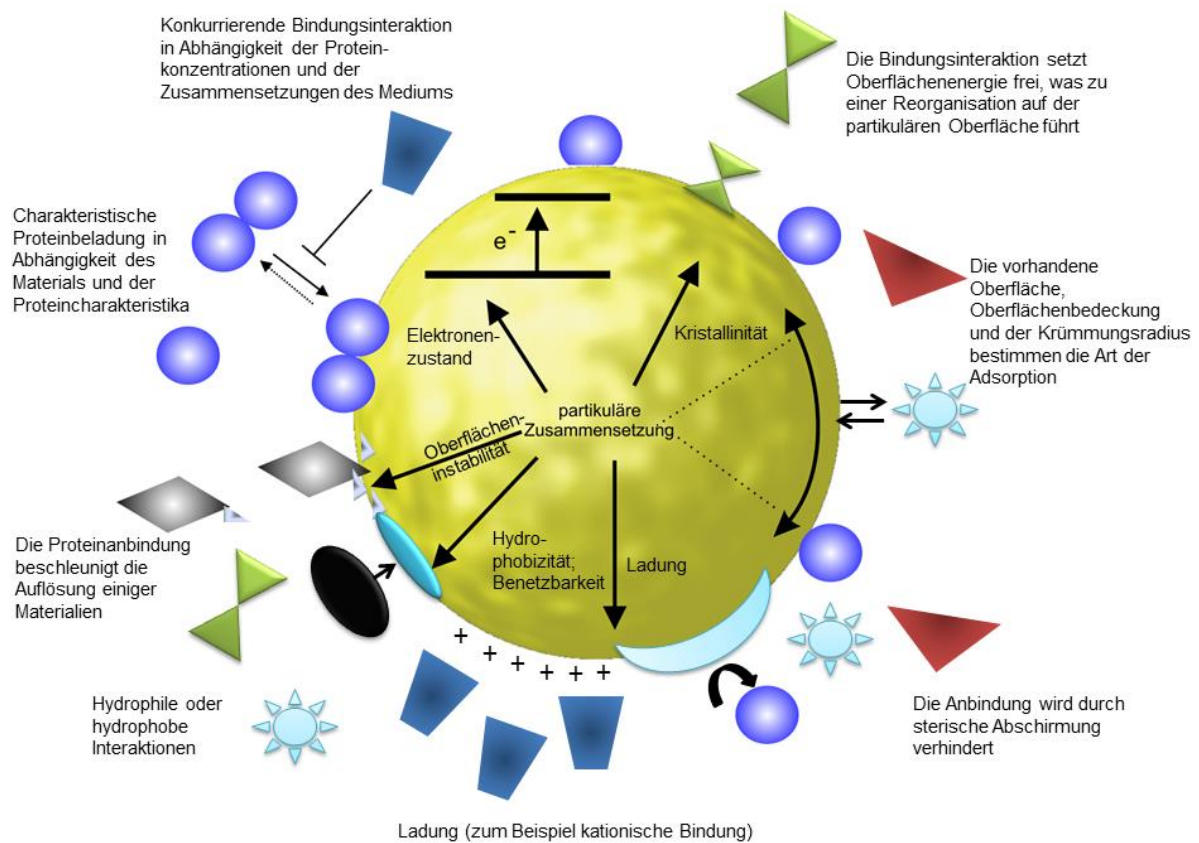


Abbildung 5: Mögliche Wechselwirkungen der nanopartikulären Oberfläche(nach Nel et al.⁽⁷⁷⁾).

Treffen Nanopartikel auf Moleküle wie beispielsweise Proteine, existieren unterschiedliche Möglichkeiten der Interaktion. Diese Wechselwirkungen werden durch die Eigenschaften der nanopartikulären Oberfläche und durch das umgebende Medium bestimmt. Die wichtigsten Eigenschaften der nanopartikulären Oberfläche sind das Material, die chemische Zusammensetzung, die Oberflächenfunktionalisierung, die Form des Partikels sowie der Krümmungsradius, die Porosität und Kristallinität der Oberfläche und die Hydrophil-/Hydrophobizität⁽⁷⁸⁻⁸⁰⁾. Das umgebende Medium besitzt ebenfalls einen wichtigen Einfluss auf die Charakteristika des Nanopartikels. Es bestimmt die Oberflächenladung, den Aggregationszustand, die Auflösungscharakteristika, die Hydratation und die Oberflächenvalenz. Hierbei spielen die ionische Stärke, der pH-Wert, die Temperatur und die

Präsenz von großen organischen Molekülen, wie beispielsweise Proteine, eine große Rolle^(77,78).

Gelangen Nanopartikel in ein biologisches Medium, so konkurrieren die unterschiedlichen in der Lösung befindlichen Komponenten miteinander. Adsorbieren die Proteine auf der Oberfläche, so können diese denaturieren und ebenfalls in Konkurrenz zu den noch in der Lösung vorhandenen Proteinen treten. Ein weiterer wichtiger Faktor stellt hierbei die Beschaffenheit der Oberfläche und die Stärke der Krümmung dar. Adsorbieren beispielsweise Proteine auf sehr kleinen nanopartikulären Oberflächen, können diese, bedingt durch den starken Krümmungsradius, zerstört werden⁽⁸¹⁾. Zudem ist das System dynamisch. So werden zum Beispiel auf kurzen Zeitskalen eher die Moleküle adsorbiert, welche mengenmäßig dominieren. Werden längere Zeitskalen betrachtet, so können diese durch Moleküle ausgetauscht werden, welche zwar in geringerer Anzahl vorhanden sind, jedoch eine höhere Bindungsaffinität und eine langsamere Kinetik besitzen⁽⁷⁷⁾.

Des Weiteren ist bekannt, dass einige Nanopartikel, wie zum Beispiel Silbernanopartikel, Ionen frei setzen. Die Anbindung einiger Proteine kann diese Freisetzung beschleunigen. Auch hängen die möglichen Wechselwirkungen mit der Hydrophili-/Hydrophobizität sowie der Ladung der Oberfläche ab. Befinden sich bereits voluminöse Moleküle auf der partikulären Oberfläche kann die Anbindung weiterer Moleküle aufgrund der auftretenden sterischen Effekte verhindert werden⁽⁷⁷⁾.

3.2. Theorie der Lichtstreuung

Trifft Licht auf Materie, existieren prinzipiell zwei unterschiedliche Möglichkeiten der Interaktion. Die erste Möglichkeit besteht in der Streuung dieses Lichtes, wobei die Wellenlänge erhalten bleibt. Diese Streuung findet, mit unterschiedlichen Intensitäten, in alle Richtungen statt. Die zweite Möglichkeit ist, dass die auftreffende Energie umgewandelt wird. Diese Umwandlung kann entweder in Wärme oder andere Formen der Energie, welche zum Beispiel Reaktionen induzieren, erfolgen⁽⁸²⁻⁸⁴⁾. Dieser Vorgang nennt sich Absorption. Wird gestreutes Licht im Allgemeinen betrachtet, so stellt die wichtigste Eigenschaft die Intensität I , also der Energiefluss pro Zeit und Fläche, dar. Allerdings kann weder das eintreffende noch das reflektierte Licht vollständig durch seine Intensität beschrieben werden. Hierzu werden noch zwei weitere wichtige Faktoren benötigt, nämlich die Polarisierung und die Phase⁽⁸⁴⁾. Wird gestreutes Licht aus dem Fernfeld betrachtet, so besteht es aus sphärischen Wellen, die gegen unendlichen Abstand planare Formen annehmen. Die Richtung dieser Streuung wird durch den Polwinkel θ und den Azimut-Winkel φ beschrieben.

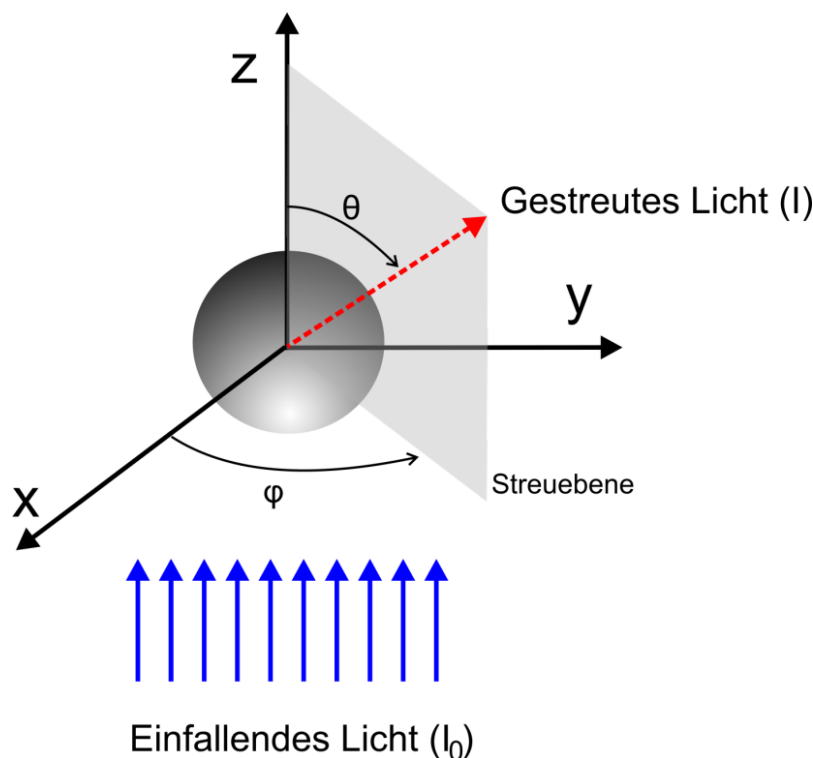


Abbildung 6: Schematische Streugeometrie eines Partikels induziert durch einfallendes Licht der Intensität I_0 (nach van de Hulst⁽⁸⁴⁾).

Die Intensität des gestreuten Lichts I , welche von einem weit entfernten Punkt im Abstand d zum Partikel detektiert wird, lässt sich durch folgende Formel berechnen⁽⁸⁴⁾:

$$I = \frac{I_0 F(\theta, \varphi)}{k^2 d^2} \quad (3.2.1)$$

Hierbei beschreibt I_0 die Intensität des einfallenden Lichtes und k die Wellenzahl, welche durch $k = 2\pi/\lambda$ gegeben ist. Des Weiteren handelt es sich bei $F(\theta, \varphi)$ um eine dimensionslose Funktion, welche nur von der Orientierung des Partikels zum einfallenden Licht und von der Polarisation des Partikels abhängt⁽⁸⁴⁾.

Um nun den Streuquerschnitt eines Partikels zu bestimmen, wird zunächst die Annahme gemacht, dass die gesamte Energie, welche in alle Richtungen gestreut wird, gleich der Energie des einfallenden Lichts ist. Mit dieser Annahme und unter Berücksichtigung von Formel (3.2.1) lässt sich der Streuquerschnitt (cm^2 , bzw. m^2) wie folgt berechnen⁽⁸⁴⁾:

$$C_{\text{sca}} = \frac{I}{k^2} \int F(\theta, \varphi) d\Omega \quad (3.2.2)$$

Hierbei beschreibt $d\Omega = \sin\theta \, d\theta \, d\varphi$ den differentiellen Raumwinkel in Kugelkoordinaten. Die Energie, welche vom Partikel absorbiert wird, wird über den Absorptionsquerschnitt C_{abs} beschrieben. Diese absorbierte Energie wird von der Energie des einfallenden Laserstrahls (I_0) subtrahiert und lässt sich über den Extinktionsquerschnitt C_{ext} beschreiben. Grundsätzlich lässt sich zwischen elastischer und inelastischer Streuung unterscheiden. Bei der elastischen Streuung besitzt das emittierte Licht dieselbe Energie wie das reflektierte Streulicht ($E_{\text{in}} = E_{\text{out}}$). Wird das auf den Streuer auftreffende Licht inelastisch gestreut, so ändert sich die Energie des gestreuten Lichts ($E_{\text{in}} \neq E_{\text{out}}$). Das Gesetz der Energieerhaltung erfordert nun, dass

$$E_{\text{ext}} = E_{\text{sca}} + E_{\text{abs}} \quad (3.2.3)$$

ist^(83,84). Mit Hilfe der Intensität des gestreuten Lichts und dem Streuquerschnitt lässt sich nun die absolute Streuleistung (in Watt, W) eines einzelnen Partikels bestimmen⁽⁸³⁾:

$$W_{\text{sca}} = C_{\text{sca}} I \quad (3.2.4)$$

Ist das mit dem Licht wechselwirkende sphärische Kolloid klein im Bezug zur Wellenlänge des Lichts, so genügt die Rayleigh-Theorie^(83,84), um das Streuverhalten zu beschreiben. Ist es gleich, bzw. größer als die Wellenlänge des Lichts, so lassen sich sowohl elastische als auch

inelastische Streueffekte anhand der Mie-Theorie⁽⁸⁵⁾, welche die Rayleigh-Theorie mit der optischen Geometrie verbindet, beschreiben⁽⁸⁴⁻⁸⁶⁾.

3.2.1. Rayleigh-Streuung

Die Wellenlänge des sichtbaren Lichtes befindet sich in etwa zwischen $\lambda = 380 - 780 \text{ nm}$ ⁽⁸⁷⁾. Trifft nun Licht auf ein Partikel, welches kleiner als die Wellenlänge des einfallenden Lichts ist, wird das Licht in einer gleichmäßigen Wellenform gestreut und es wird, bedingt durch das auftreffende elektrische Feld, ein Dipol innerhalb des Partikels erzeugt. Des Weiteren kann aufgrund der äußerst kleinen Dimension des Partikels das umgebende elektrische Feld E_0 als homogen angesehen werden.

Das Dipolmoment μ , welches im Partikel induziert wird, ist mit dem Vektor des elektrischen Feldes E_0 über den Polarisierbarkeitstensor α des Streuobjekts verknüpft^(82,84).

$$\mu = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (3.2.5)$$

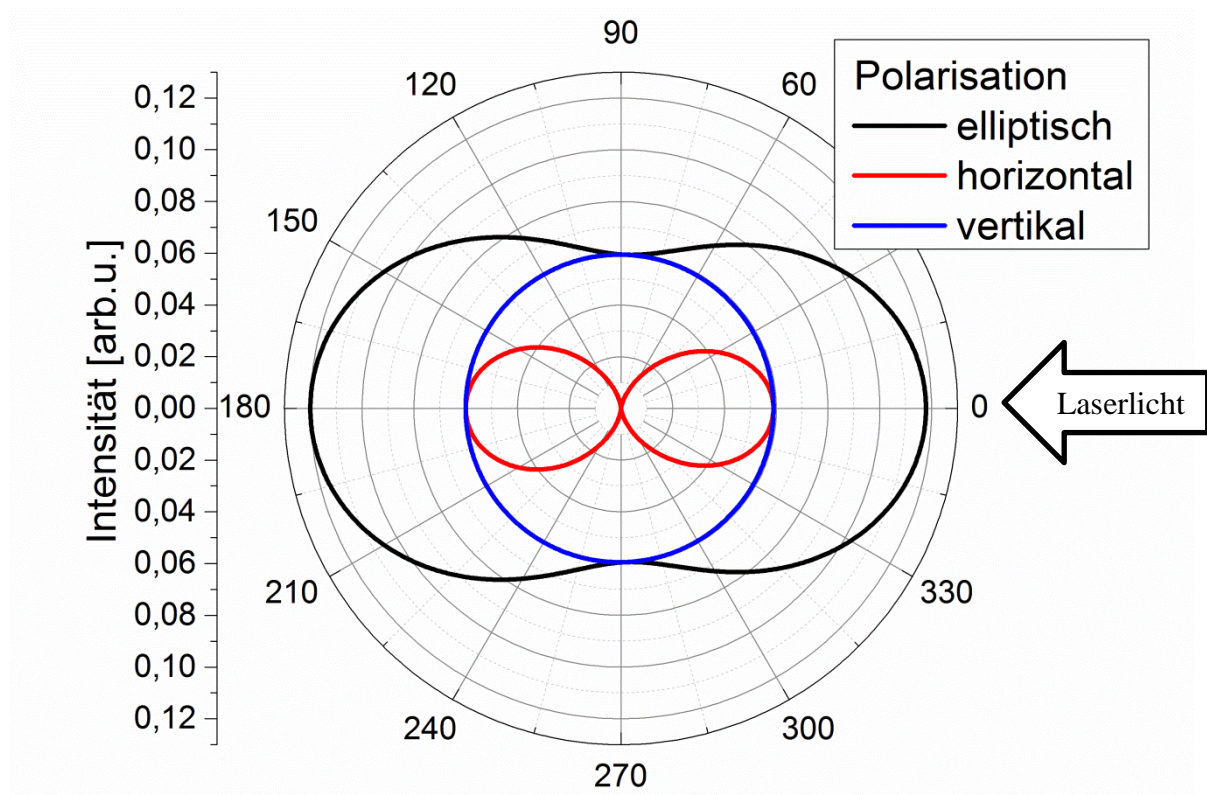


Abbildung 7: Mit der Software Scatlab1.2⁽⁸⁸⁾ berechnetes Polarkoordinatendiagramm der Rayleigh-Streuung an einem Silbrenanopartikel ($2r \ll \lambda$) für elliptisch polarisiertes Licht, sowie dessen horizontale und vertikale Komponente. (Parameter: (m_1 (Wasser) = 1,33; k_1 (Wasser) = 0; m_2 (Silber) = 0,129; k_2 (Silber) = 3,193)⁽⁸⁹⁾; $\lambda = 532 \text{ nm}$; $\theta = 90^\circ$; $r = 30 \text{ nm}$).

Das so erzeugte Dipolmoment oszilliert in alle Richtungen. Die horizontale und die vertikale Komponente des gestreuten Lichts unterscheiden sich. Da die Intensität der Rayleigh-Streuung durch⁽⁸⁴⁾

$$I = \frac{(1 + \cos^2 \theta) k^4 |\alpha|^2}{2d^2} I_0 \quad (3.2.6)$$

gegeben ist, wird schnell der Grund des Unterschiedes ersichtlich. Der Term $(1 + \cos^2 \theta)$ beschreibt normales elliptisch polarisiertes Licht. Wird dieses Licht in seine vertikale und seine horizontale Polarisation zerlegt, so wird für die vertikale Komponente der Wert 1 und für die horizontale Komponente der Wert $\cos^2 \theta$ erhalten^(82,84). Wird nun Formel (3.2.6) wiederum durch den Term $k = 2\pi/\lambda$ erweitert, wird ersichtlich, dass die Intensität I mit λ^{-4} einhergeht.

Dies erklärt zudem die abendliche Rotfärbung des Himmels. Tagsüber legt das Licht der Sonne eine kürzere Wegstrecke zurück als abends. Abends steht die Sonne wesentlich niedriger über dem Horizont und das polychromatische Licht muss eine wesentlich längere Wegstrecke zurücklegen. Die Erdatmosphäre enthält sowohl Gasmoleküle als auch kleinere Partikel, an denen das polychromatische Licht gestreut wird. Der blaue Anteil des polychromatischen Lichts wird dabei wesentlich stärker gestreut, als der rote Anteil. Tagsüber ist die Wegstrecke des Lichts kurz und es bleibt viel energetisch hohes, blaues Licht über. Abends hingegen, wenn die Wegstrecke des Lichts wesentlich länger ist, wird so viel blaues Licht herausgestreut, dass der Himmel rot erscheint⁽⁸⁴⁾.

Wird nun die Streuung eines isotropen sphärischen Partikels mit dem Radius r betrachtet, so lässt sich die Polarisierbarkeit α folgendermaßen beschreiben^(82,84):

$$\alpha = \frac{3(m^2 - 1)}{4\pi(m^2 + 2)} V = \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} r^3 \quad (3.2.7)$$

Hier beschreibt m den komplexen Brechungsindex der Partikel und V das Volumen. So lange $2r \ll \lambda$ gilt, besitzt Gleichung (3.2.7) Gültigkeit. Sie besitzt auch dann Gültigkeit, wenn die Form der Partikel verändert wird⁽⁸²⁾.

Die Streueffizienz Q_{sca} eines kleinen Partikels ist durch folgende Formel gegeben^(84,90)

$$Q_{sca} = \frac{8}{3} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 k^4 r^4 \quad (3.2.8)$$

und der resultierende Streuquerschnitt C_{sca} lässt sich folgendermaßen berechnen^(84,90):

$$C_{sca} = \frac{8}{3} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 \pi k^4 r^6 \quad (3.2.9)$$

In dem Falle der Rayleigh-Streuung wird das Licht elastisch gestreut. Hierbei tritt keine Änderung der Energie vom Streulicht zum Primärlicht auf. Eine auftretende inelastische Streuung lässt sich hingegen mit der Theorie von Raman⁽⁹¹⁾ beschreiben.

3.2.2. Raman-Streuung und der Oberflächenverstärkte-Raman-(SERS)-Effekt

Wird Licht in einem inelastischen Prozess gestreut, wird dieser Effekt Raman-Streuung genannt. Raman-Streuung kann als zweistufiger Prozess beschrieben werden, in dem das eingestrahlte Licht der Frequenz ν_0 zu einer Anregung des Moleküls in ein virtuelles Energieniveau führt. Anschließend wird dieses Energieniveau durch Lichtemission entvölkert. Dabei wird die Polarisation der Moleküle aufgrund des einfallenden Lichts und des elektrischen Feldes verändert.

Erfolgt die Anregung aus dem Grundzustand in das erste virtuelle Energieniveau, nimmt das Molekül Photonenenergie auf und das emittierte Licht besitzt eine niedrigere Energie ($\nu_0 - \nu_j$) (Stokes-Verschiebung). Treffen die Photonen allerdings ein bereits angeregtes Molekül, so ist das emittierte Licht energiereicher. Dies führt zu einer anti-Stokes-Verschiebung, welche mit einer energetisch höheren und verkürzten Wellenlänge einhergeht ($\nu_0 + \nu_j$). Findet die initiale Anregung in dem Energieniveau statt, welches nach der resultierenden Emission wieder erreicht wird, so findet eine elastische Streuung statt. Die Energie der eingestrahnten und der emittierten Wellenlänge bleibt bei diesem Streuvorgang (Rayleigh-Streuung) unverändert⁽⁹²⁾.

Wird Gleichung (3.2.5) erweitert sich der Bezug zur Rayleigh-, Stokes- und anti-Stokes-Streuung, folgendermaßen beschreiben⁽⁹²⁾:

$$\mu = \overbrace{\alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t)}^{\text{Rayleigh-Streuung}} + \frac{1}{2} \left(\frac{\delta\alpha}{\delta R} \right)_0 R_0 E_0 \left[\overbrace{\cos\{2\pi t(\nu_0 + \nu_j)\}}^{\text{Anti-Stokes-Streuung}} + \overbrace{\cos\{2\pi(\nu_0 - \nu_j)\}}^{\text{Stokes-Streuung}} \right] \quad (3.2.10)$$

Hier beschreibt ν die Frequenz des Lichts und R die Distanz der schwingenden Atomkerne. Das Prinzip der Raman-Streuung ist in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt:

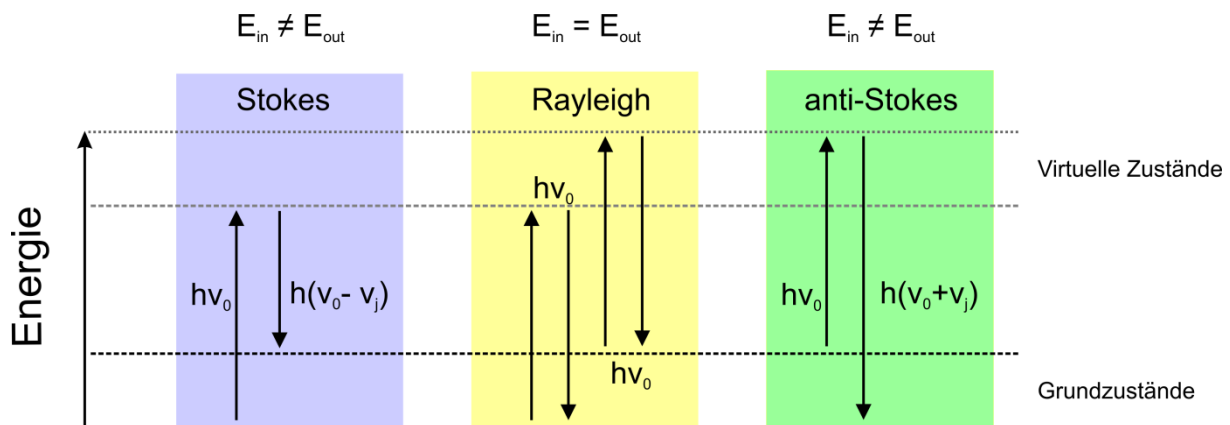


Abbildung 8: Schematische Darstellung der elastischen (Rayleigh) und inelastischen (Stokes und Anti-Stokes) Streuprozesse. (nach Le Ru⁽⁹²⁾).

Das so emittierte Raman Signal ist relativ schwach und kann durch den sogenannten Surface-Enhanced-Raman-Spectroscopy-(SERS)-Effekt verstärkt werden. Dieser Effekt wurde im Jahre 1974 von Fleischmann, Hendra und Mcquillan entdeckt⁽⁹³⁾. Die Anwendung von SERS führt zu einer stark von der Oberfläche abhängigen Verstärkung des Raman-Signals um einen Faktor von bis zu 10^{15} ⁽⁹⁴⁾. Hierdurch wird sogar Spektroskopie an einzelnen auf einer polarisierbaren Oberfläche befindlichen Molekülen möglich^(95,96).

Im Falle der oberflächenverstärkten Raman-Streuung sind die Plasmonen der Oberfläche eines geeigneten SERS-Substrats in Resonanz mit der Raman-Frequenz des adsorbierten Moleküls. Dies führt aufgrund dieser positiven Resonanz zu einer Verstärkung des erhaltenen Spektrums. Aus diesem Grund bietet die oberflächenverstärkte Raman-Spektroskopie eine empfindliche Technik, um Moleküle auf und an Oberflächen von plasmonischen Nanostrukturen zu detektieren^(92,94,97-99).

3.2.3. Mie-Streuung

Wird die Lichtstreuung an Partikeln betrachtet, welche größer als die Lichtwellenlänge sind, so genügt die vereinfachte Theorie der Rayleigh- und der Raman-Streuung nicht, um die auftretenden Streueffekte hinreichend zu erklären. Für diesen Bereich erarbeitete Gustav Mie im Jahre 1908 erstmals ein Modell, das die Rayleigh-Theorie mit der optischen Geometrie verbindet⁽⁸⁵⁾.

Die Theorie der Mie-Streuung beschreibt die innerhalb und außerhalb eines sphärischen Objektes auftretenden Felder als Superposition von Partialwellen. Diese Partialwellen werden dabei mit Streukoeffizienten gewichtet, um die Überlagerungen der einzelnen entstehenden Felder zu berechnen. Wird nun die Streuung eines größeren Partikels ($2r > \lambda$) berechnet, ergibt sich folgende Verteilung der Streueffizienten in Abhängigkeit der einzelnen Betrachtungswinkel, wobei im folgenden Beispiel die Streuung an einem größeren Silbernanopartikel betrachtet wird.

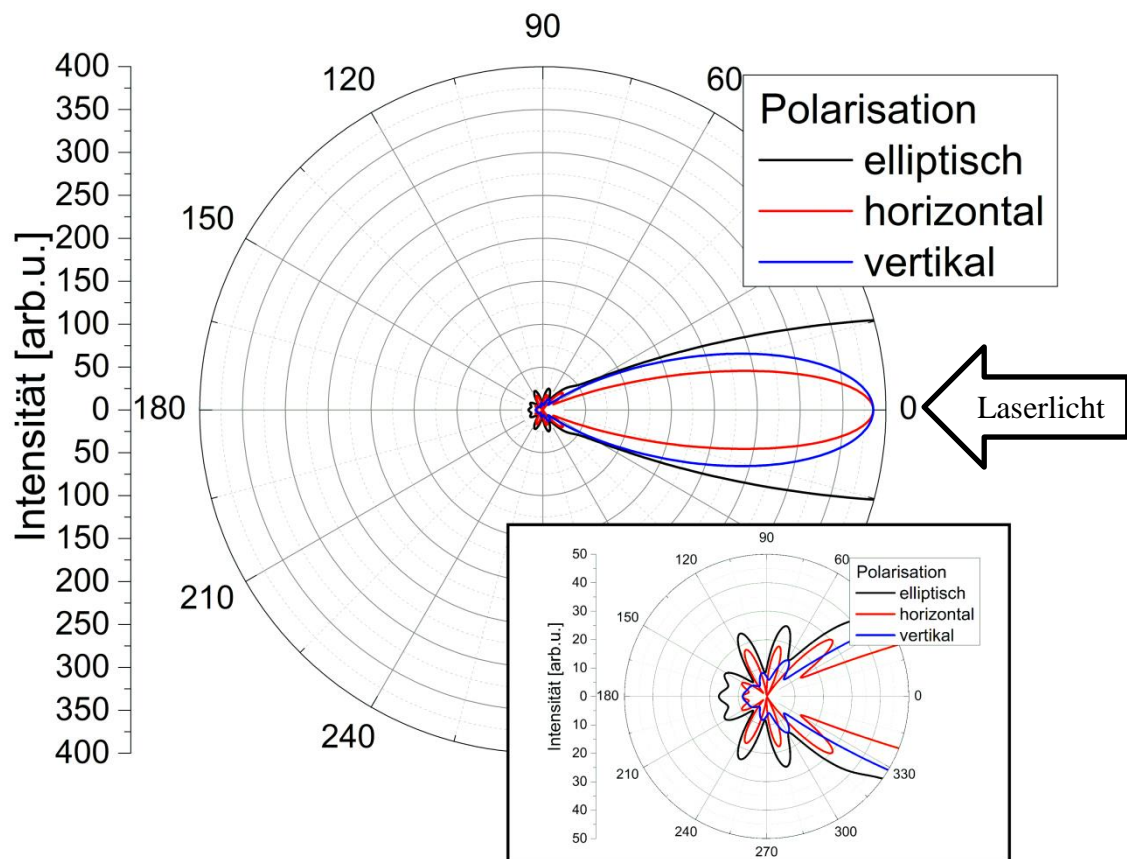


Abbildung 9: Mit der Software Scatlab1.2[93] berechnetes Polarkoordinatendiagramm der Mie-Streuung an einem Silbernanopartikel ($2r > \lambda$) für elliptisch polarisiertes Licht, sowie dessen horizontale und vertikale Komponenten. (Parameter: (m_1 (Wasser) = 1,33; k_1 (Wasser) = 0; m_2 (Silber) = 0,129; k_2 (Silber) = 3,193)⁽⁸⁹⁾; λ = 532 nm θ = 90°; r = 300 nm).

Das Polarkoordinatendiagramm in Abbildung 9 zeigt deutliche Unterschiede zu dem in Abbildung 7 gezeigten Diagramm. Da das Partikel nun größer als die verwendete Lichtwellenlänge ist, kommt es zu einer Überlagerung der Streuwellen^(83,84,100-102). Dies führt zu konstruktiven und destruktiven Interferenzen der sich überlagernden Wellen. Wie in Abbildung 9 zu erkennen ist, führt dies dazu, dass die winkelabhängige Intensität des gestreuten Lichts einen asymmetrischen Charakter erhält. Der größte Anteil wird dabei zur Lichtquelle zurückreflektiert (0°). Wird demnach das Licht aus unterschiedlichen Koordinaten betrachtet, entsteht ein Streumuster, welches wiederum aus der Überlagerung der einzelnen Wellen hervorgeht. Wie in Abbildung 9 zu erkennen ist, besitzt der in 180° gestreute Anteil ebenfalls ein anderes Intensitätsmuster als die seitlich abgestreuten Wellen.

Um dieses Problem zu lösen, zerlegte Gustav Mie die Lichtwelle in drei Anteile und betrachtete das System aufgrund der Symmetrie des sphärischen Streuobjektes in Kugelkoordinaten (r, φ, θ) ⁽⁸⁵⁾. Die einfallende Streuwelle lässt sich durch das Hertz-Debye-Potential $\pi_{1,2}$ beschreiben^(83,84,100-102):

$$r\pi_{a,1} = \frac{1}{k_a^2} \sum_{m=1}^{\infty} i^{m-1} \frac{2m+1}{m(m+1)} a_n \xi_n(k_a r) P_n^{(1)}(\cos\theta)(\cos\theta) \quad (3.2.11)$$

$$r\pi_{a,2} = \frac{-i}{k_a^2} \sum_{m=1}^{\infty} i^{m-1} \frac{2m+1}{m(m+1)} b_n \xi_n(k_a r) P_n^{(1)}(\cos\theta)(\sin\varphi) \quad (3.2.12)$$

Ebenso lassen sich die Potentiale der Welle im Partikel berechnen^(83,84,100-102):

$$r\pi_{i,1} = \frac{1}{k_i^2} \sum_{m=1}^{\infty} i^{m-1} \frac{2m+1}{m(m+1)} c_n \psi_n(k_i r) P_n^{(1)}(\cos\theta)(\cos\theta) \quad (3.2.13)$$

$$r\pi_{i,2} = \frac{i}{k_i^2} \sum_{m=1}^{\infty} i^{m-1} \frac{2m+1}{m(m+1)} d_n \psi_n(k_i r) P_n^{(1)}(\cos\theta)(\sin\varphi) \quad (3.2.14)$$

In den obigen Gleichungen beschreibt r den Radius des sphärischen Streuobjekts, k_a und k_i die Wellenzahlen des realen und imaginären Wellenteils, m den Brechungsindex und $P_n^{(1)}$ das sogenannte Legendresche Polynom⁽¹⁰³⁾. Mit den Koeffizienten a_n und b_n lässt sich nun anhand einer Reihenentwicklung die Streuwelle und mit c_n und d_n die Welle im inneren des Streuobjekts berechnen^(83,84,100-102).

$$a_n = \frac{m\psi_n(x)\psi'_n(mx) - \psi_n(mx)\psi'_n(x)}{m\xi_n(x)\psi'_n(mx) - \psi_n(mx)\xi'_n(x)} \quad (3.2.15)$$

$$b_n = \frac{\psi_n(x)\psi'_n(mx) - m\psi_n(mx)\psi'_n(x)}{\xi_n(x)\psi'_n(mx) - m\psi_n(mx)\xi'_n(x)} \quad (3.2.16)$$

$$c_n = \frac{i}{\xi_n(x)\psi'_n(mx) - m\psi_n(mx)\xi'_n(x)} \quad (3.2.17)$$

$$d_n = \frac{i}{m\xi_n(x)\psi'_n(mx) - \psi_n(mx)\xi'_n(x)} \quad (3.2.18)$$

In den vorangegangenen Formeln beschreibt m wiederum den komplexen Brechungsindex. Die Werte ψ_n und ξ_n sind Ricatti-Bessel-Funktionen. Diese lassen sich aus der Bessel-Funktion $I_{n+1/2n}$ und der Hankel-Funktion $H_{n+1/2n}$ ableiten. Die Hankel-Funktion besitzt die Eigenschaft im Unendlichen gegen null zu gehen. Betrachtet man gestreutes Licht aus dem Fernfeld, so nimmt die Energiedichte des Feldes mit zunehmendem Abstand zum Strahler ab. Somit ist die Hankel-Funktion zur Beschreibung der Streuwelle geeignet^(83,84,100-102).

$$\psi_n(x) = \sqrt{\frac{\pi x}{2}} I_{n+1/2}(x) \quad (3.2.19)$$

$$\xi_n(x) = \sqrt{\frac{\pi x}{2}} H_{n+1/2}^{(2)}(x) \quad (3.2.20)$$

Mit diesen von Gustav Mie gefundenen Gleichungen und der unabhängigen Beschreibung der einfallenden Streuwelle, der im Partikel entstehenden Welle sowie der resultierenden Streuwelle können die Streueigenschaften eines sphärischen Objektes in guter Näherung berechnet werden.

3.3. Nachweis und Charakterisierung von Nanopartikeln in wässrigen Medien

Nanopartikel sind aufgrund ihrer extrem geringen Größe für viele Nachweismethoden von Partikeln grundsätzlich nicht zugänglich. Von den derzeit existierenden Methoden zur Quantifizierung und Charakterisierung von Partikeln können nur einige wenige erfolgreich für Nanopartikel angewandt werden. Hierzu zählen die Methode der Dynamischen Lichtstreuung (DLS), die Elektronenmikroskopie (REM/TEM), Laser-Induzierte-Breakdown-Detection (LIBD), die analytische Scheibenzentrifugation und die Videoanalyse der Brown'schen Molekularbewegung (BMNS). Während die Methoden der DLS, BMNS, LIBD und analytische Scheibenzentrifugation in-situ verwendet werden können, müssen die zu untersuchenden Proben bei einer Analyse mit REM/TEM zunächst aufwendig präpariert werden. Folgend werden zunächst die Methoden der LIBD, REM/TEM und die Methode der analytischen Scheibenzentrifugation zusammenfassend erläutert. Anschließend werden die für diese Arbeit relevanten Methoden der DLS und der BMNS eingehend erläutert.

Mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops (REM) und des Transmissions-elektronenmikroskops (TEM) lassen sich Größe und Morphologie von Partikeln bestimmen. Beide Verfahren beruhen auf der Wechselwirkung eines gebündelten Elektronenstrahls, welcher im Falle des REM-Verfahrens von der Oberfläche zurückgeworfen wird. Wird ein TEM verwendet, werden die Elektronen nach dem Durchstrahlen der Probe detektiert. Die Methode der Transmissionsmikroskopie benötigt daher äußerst dünne Proben, wohingegen für die Rasterelektronenmikroskopie auch Proben verwendet werden können, die eine Schichtdicke von mehreren hundert Nanometern besitzen⁽¹⁰⁴⁾. Die Energie des Elektronenstrahls beträgt bei dem TEM-Verfahren 100-400 keV⁽¹⁰⁵⁾. Bei der Methode der REM werden Energien zwischen 50 und 3000 keV verwendet⁽¹⁰⁴⁾. Um die Ablenkungen der Elektronen durch andere Komponenten, wie zum Beispiel vorhandene Gasmoleküle, zu minimieren, werden REM- und TEM-Messungen im Hochvakuum durchgeführt. Deshalb müssen die zu untersuchenden Proben vor der Messung aufwändig präpariert werden. Die Probentrocknung kann sowohl die Morphologie als auch den Agglomerationszustand der einzelnen partikulären Komponenten beeinflussen⁽¹⁰⁶⁾. Dennoch stellt diese Methode trotz der aufwändigen Probenaufbereitung und der möglichen Veränderung des kolloidalen Zustands eine sehr genaue Möglichkeit der Charakterisierung von Form und Größe nanopartikulärer Spezies dar^(43,107,108).

Die laserinduzierte Breakdown-Detektion (LIBD) basiert auf der Erzeugung von Plasmen an kolloidalen Teilchen in Flüssigkeiten. Die Anzahl der registrierten Plasmen im Vergleich zur Gesamtanzahl der während einer Messung abgegebenen Laserpulse ergibt die sogenannte Breakdown-Häufigkeit. Diese kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. In Abhängigkeit der Partikelgröße stellt die Breakdown-Häufigkeit ein Maß für die Kolloidkonzentration in der untersuchten Probe dar. Die Detektionsgrenze für Partikel in einem Größenbereich von 10 nm liegt bei der LIBD-Methode typischerweise bei $<1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$. Demnach beschränkt sich diese Methode auf schwach konzentrierte kolloidale Lösungen⁽¹⁰⁹⁾. Die LIBD-Methode erlaubt die gleichzeitige Bestimmung von Partikelgröße und -anzahl. Sie lässt sich allerdings nur dann erfolgreich anwenden, wenn die größeren Partikel, welche für die Breakdown-Schwelle maßgeblich sind, mengenmäßig nicht dominieren⁽¹⁰⁹⁾. Zudem kann die LIBD-Methode nicht zwischen verschiedenen nanopartikulären Komponenten unterscheiden. Unterschiedliche Nanopartikel erzeugen auch unterschiedliche Breakdown-Eigenschaften. Aus diesem Grund muss das System zuvor für jede Nanopartikel-Spezies kalibriert werden und ist dadurch nicht für die Detektion verschiedener Nanopartikel geeignet⁽¹¹⁰⁾.

Bei der analytischen Scheibenzentrifugation wird die zu untersuchende Partikelsuspension mittig in eine rotierende, mit einer Flüssigkeit gefüllten Scheibe eingebracht. Anschließend wird anhand der auftretenden Graviationskraft der rotierenden Scheibe eine Sedimentation der Partikel eingeleitet. Diese werden nun aufgrund ihrer Größe und ihrer Dichte unterschiedlich stark beschleunigt und vom Detektor registriert. Das System muss zuvor allerdings mit einer gut bekannten Partikelsuspension der gleichen Zusammensetzung, wie die zu untersuchende Partikelsuspension, kalibriert werden. Aufgrund unterschiedlicher Materialdichten und Oberflächenfunktionalisierungen werden ansonsten verfälschte Ergebnisse erzielt⁽¹¹¹⁾.

3.3.1. Optische Detektion der Brown'schen Molekularbewegung

Die Brown'sche Molekularbewegung⁽¹¹²⁾ beschreibt die thermische Eigenbewegung von Partikeln in einer Lösung. Dabei führen die Partikel unregelmäßige Bewegungen aus und ändern ihre Richtung durch molekulare Stöße. Aus der Analyse dieser Eigenbewegungen können unter der Annahme sphärischer Partikel die hydrodynamischen Radien der einzelnen Partikel bestimmt werden^(74,96).

Bei diesem Verfahren wird zunächst ein Video des an den Partikeln gestreuten Lichts aufgenommen. Durch die Beobachtung der thermischen Trajektionspfade lassen sich respektive Daten über die Größen der einzelnen Partikel ermitteln. Anschließend werden die so ermittelten Größen in einem Histogramm dargestellt. Aus der Anpassung der so erhaltenen Partikelverteilungsbreite mit einer Log-Normal-Funktion kann der gemittelte hydrodynamische Partikelradius (Kapitel 3.3.1.2.) bestimmt werden. Ist das optische Mikroskop mit einer Beleuchtungsquelle und einem Dunkelfeldkondensator ausgestattet, lassen sich vorzugsweise größere Partikel detektieren. Bei nanopartikulären Komponenten reicht das gestreute Licht des Dunkelfeldkondensors nicht aus. Hierzu wird ein Verfahren angewandt, bei dem ein Laserstrahl rechtwinklig zur Beobachtungsrichtung auf die flüssige Probe trifft und somit die Streuintensität des an den Partikeln gestreuten Lichts erhöht.^(74,96,113,114)

3.3.1.1. Brown'sche Molekularbewegung

Die Brown'sche Molekularbewegung wurde nach dem schottischen Botaniker Robert Brown benannt. Er beobachtete sie das erste Mal 1827 bei lichtmikroskopischen Untersuchungen von Pollen⁽¹¹²⁾. Obwohl diese nicht lebendig waren, beobachtete er eine ständige ungeordnete Bewegung. Diese ungeordnete Bewegung wird als Brown'sche Molekularbewegung bezeichnet. Sie beschreibt die thermische Eigenbewegung von Teilchen, sowohl in einer flüssigen als auch in einer gasförmigen Phase. Bedingt durch diese thermische Eigenbewegung treffen die einzelnen Partikel aufeinander. Hierbei kommt es aufgrund molekularer Stöße und den dabei auftretenden Wechselwirkungen zu einer Richtungsänderung der einzelnen partikulären Komponenten.

In der folgenden Abbildung ist die thermische Eigenbewegung einiger Silbernanopartikel exemplarisch dargestellt.

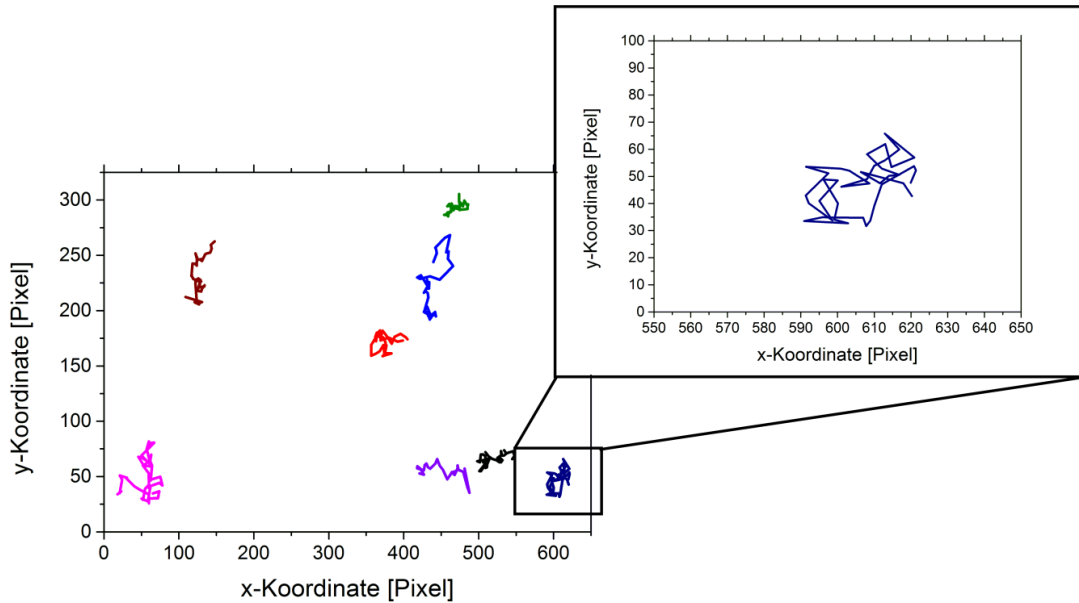


Abbildung 10: Thermische Eigenbewegungen einiger exemplarisch gewählter citrat-stabilisierter Silbernanopartikel.

Aufgrund dieser chaotischen, stochastisch bestimmten Bewegung der einzelnen Partikel werden bei der Auswertung der Brown'schen Molekularbewegung statistische Methoden angewandt. Es kann also nur eine spezifische Aussage über die gemittelte Partikelgröße einer kolloidalen Suspension gemacht werden, wenn entsprechend viele Partikel detektiert wurden. Die Größe eines jeden einzelnen beobachteten Partikels lässt sich anhand der Stokes-Einstein-Gleichung bestimmen, welche nachfolgend hergeleitet wird.

Zunächst wird die Diffusion unter der vereinfachten Annahme, dass das System aus einzelnen Flächen besteht, betrachtet⁽¹¹⁵⁾. Bei der Betrachtung der Fläche A ergibt N_{in} die Anzahl der Partikel, die in einer Richtung durch diese Fläche strömen. N_{out} hingegen beschreibt den Teilchenfluss in entgegengesetzter Richtung. Dabei wird c_r als die Konzentration rechts von dieser Fläche und c_l als die Konzentration, welche sich links von dieser Fläche befindet, angenommen⁽¹¹⁵⁻¹¹⁸⁾.

$$N_{in} = \frac{I}{2} A c_l \frac{\Delta x}{t} \quad (3.3.1)$$

$$N_{out} = \frac{I}{2} A c_r \frac{\Delta x}{t} \quad (3.3.2)$$

Der Term $\Delta x/t$ beschreibt die in der Zeit t zurückgelegte Wegstrecke. Mit der Annahme eines Konzentrationsgradientens zwischen c_r und c_l ergibt sich ein Teilchenfluss. Dieser kann anhand der Gleichungen (3.3.1) und (3.3.2) berechnet werden⁽¹¹⁵⁻¹¹⁸⁾.

$$\frac{dN}{dt} = \frac{1}{2} A \frac{\Delta x (c_l - c_r)}{t} \quad (3.3.3)$$

Dies ergibt für den Konzentrationsgradienten⁽¹¹⁵⁻¹¹⁸⁾:

$$-grad\ c_i = \frac{c_l - c_r}{\Delta x} \quad (3.3.4)$$

Um nun die Stokes-Einstein-Gleichung herzuleiten, muss zunächst die Diffusion der Partikel, welche durch das erste Fick'sche Gesetz⁽¹¹⁹⁾ beschrieben wird, betrachtet werden.

$$\frac{dN}{dt} = -A \cdot D \cdot grad\ c \quad (3.3.5)$$

Hierbei beschreibt dN/dt die Teilchenstromdichte, A die Fläche, D den Diffusionskoeffizienten und $grad\ c$ den Gradienten der Konzentration c . Das Einsetzen von Gleichung (3.3.4) in das 1. Fick'sche Gesetz⁽¹¹⁹⁾ (3.3.5) ergibt folgenden Ausdruck⁽¹¹⁵⁻¹¹⁸⁾:

$$\frac{dN}{dt} = AD \frac{c_l - c_r}{\Delta x} \quad (3.3.6)$$

Die Einstein-Smoluchowski-Gleichung, welche die Diffusion D in Abhängigkeit der Zeit t beschreibt, kann nun durch Einsetzen von Gleichung (3.3.3) in Gleichung (3.3.6) erhalten werden⁽¹¹⁵⁻¹¹⁸⁾.

$$D = \frac{1}{2} \frac{\Delta x^2}{t} \quad (3.3.7)$$

Die Annahme eines zeitlich konstanten Flusses durch die Fläche A führt zu⁽¹¹⁵⁻¹¹⁸⁾:

$$\frac{dN}{dt} = A c_i v \quad (3.3.8)$$

Hierbei bezeichnet v die Teilchengeschwindigkeit, welche durch folgenden Ausdruck beschrieben wird^(115,120-122):

$$v = \frac{F_T}{f} \quad (3.3.9)$$

Die Kraft, die dabei auf die einzelnen Teilchen wirkt, wird als F_T beschrieben und f beschreibt den auftretenden Reibungskoeffizienten.

Die wirkende Kraft F_T ist zudem durch folgenden Ausdruck gegeben^(115,120-122):

$$F_T = -\frac{RT}{N_A c_i} \text{grad } c_i \quad (3.3.10)$$

Mit der allgemeinen Gaskonstante R , der Temperatur T und der Avogadrozahl N_A . Der Reibungskoeffizient f kann durch das Stoke'sche Reibungsgesetz^(115,120-122) beschrieben werden, wobei η die Viskosität und r_H den hydrodynamischen Radius beschreibt.

$$f = 6\pi r_H \eta \quad (3.3.11)$$

Mit dieser Gleichung und den Gleichungen (3.3.9) und (3.3.10) ergibt sich folgender Ausdruck:

$$v 6\pi r_H \eta = \frac{RT}{N_A c_i} \text{grad } c_i \quad (3.3.12)$$

Gleichung (3.3.12) kann nun in Gleichung (3.3.8) eingesetzt werden. Die anschließende Umstellung nach dem Teilchenfluss dN/dt ergibt:

$$\frac{dN}{dt} = \frac{ARTv}{N_A F_T} \text{grad } c_i \quad (3.3.13)$$

Mit Gleichung (3.3.5) ergibt sich nun für den Diffusionskoeffizienten D ⁽¹¹⁵⁻¹¹⁷⁾:

$$D = \frac{RTv}{N_A F_T} \quad (3.3.14)$$

Die Kombination von Gleichung (3.3.14) mit den Beziehungen aus Gleichung (3.3.9) und Gleichung (3.3.11) führt zur Stokes-Einstein-Gleichung⁽¹¹⁵⁻¹¹⁷⁾:

$$D = \frac{RT}{N_A 6\pi\eta r_H} \quad (3.3.15)$$

Durch Kombination mit der Einstein-Smoluchowski-Gleichung (3.3.7) kann der Radius eines sphärischen Partikels anhand des mittleren Verschiebungsquadrates beschrieben werden (der Fachkonvention folgend wird Δx verkürzt als Δ notiert)^(116,117,123-126):

$$\Delta^2 = \frac{RTt}{3\pi\eta r_H N_A} = 2Dt \quad (3.3.16)$$

Durch die Verwendung des mittleren Verschiebungsquadrates werden die einzelnen Bewegungsrichtungen der Partikel normiert und es gelingt somit, die mittlere Wegstrecke, die das Partikel im Zeitintervall t zurückgelegt hat, zu bestimmen. Anhand dieser Gleichungen kann nun der hydrodynamische Radius aus der thermischen Eigenbewegung der einzelnen Partikel berechnet werden.

3.3.1.2. Hydrodynamischer Radius

Das Volumen eines Nanopartikels in Lösung setzt sich aus dem Volumen seiner Atomkerne und Elektronenwolken, dem Volumen der das Partikel umgebenden Lösungsmittelmoleküle sowie den an das Partikel gebundenen Liganden zusammen. Diese Liganden können aufgrund elektrostatischer oder kovalenter Wechselwirkung an das Partikel gebunden sein. Aufgrund dieser Bindung wird das Partikel seine Solvat- bzw. seine Ligandenhülle bei der Diffusion durch die Lösung mitnehmen. Der sogenannte hydrodynamische Radius eines Partikels in einem Solvens erscheint somit immer etwas größer als der des „nackten“ Partikels.

Der hydrodynamische Radius besitzt eine große Bedeutung bei der Beurteilung biologischer Wechselwirkungen mit Nanopartikeln. Wie bereits erläutert, können beispielsweise bei der Diffusion durch ein biologisches Medium Proteine auf der Nanopartikeloberfläche adsorbieren. Dies kann sowohl zu einer adsorptionsbedingten Zunahme des Radius als auch zu einer Veränderung der elektrostatischen Wechselwirkungen, bedingt durch die neuen zusätzlichen Liganden, führen^(74,76,127-129). Zudem können sterisch stabilisierte Nanopartikel,

welche beispielsweise eine Polymerhülle besitzen, in wässrigen Medien quellen, was zu einer zusätzlichen Erhöhung des hydrodynamischen Radius führt⁽¹³⁰⁻¹³²⁾.

Die Aufnahme und der Metabolismus von partikulärem Material wird durch die Art der adsorbierten Liganden, Ladung der Kolloide und der effektiven hydrodynamischen Partikelgröße bestimmt^(76,77). Bei der Betrachtung biologischer Wechselwirkungen besitzt der hydrodynamische Radius somit eine wesentlich höhere Relevanz, als der Radius des ligandenfreien Partikels, welcher durch die Betrachtung der Kolloide mit elektronenmikroskopischen Methoden erhalten wird.

3.3.1.3. Logarithmische Normalverteilung

Wird eine Partikelgrößenverteilung betrachtet, tritt diese in der Regel als logarithmisch normalverteilte Funktion (Log-Normal-Funktion) auf⁽¹³³⁾. Dies liegt daran, dass die Partikel aus einem Wachstumsprozess hervorgehen, in dem die kleinere Partikelfraktion zu Gunsten der größeren schrumpft⁽¹³⁴⁾. Hieraus resultiert eine asymmetrische Verteilungsfunktion, die sich durch folgende Gleichung beschreiben lässt⁽¹³⁵⁾:

$$f(x) = \frac{1}{x\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{1}{2\sigma^2}(\ln(x) - \mu)^2\right) \quad (3.3.17)$$

Hierbei beschreibt μ den logarithmischen Mittelwert und σ die Standardabweichung. Aus einer Log-Normal-Verteilung lassen sich der mittlere und der gemittelte Wert der Verteilungsfunktion sowie der Modus-Wert bestimmen⁽¹³⁵⁾.

Wird eine Log-Normal-verteilte Funktion betrachtet, so besitzt der Modus immer den kleinsten Wert. Der Modus beschreibt die am häufigsten vorkommende Wertefraktion und ist in Abbildung 11 als blaue durchgehende Linie dargestellt. Der zweite relevante Wert ist der Median oder auch mittlere Wert der Verteilungsfunktion. Der Median halbiert die Verteilung und beschreibt somit den Punkt, an dem 50% größere Werte und 50% kleinere Werte als der Median-Wert besitzen. Dieser Wert lässt sich in Abbildung 11 anhand der rot gestrichelten Linie erkennen. Bei der Betrachtung kolloidaler Systeme wird häufig der gemittelte Wert der Verteilungsfunktion verwendet. Dieser wird durch das arithmetische Mittel beschrieben. Dies ist in Abbildung 11 durch die grün gepunktete Linie dargestellt.

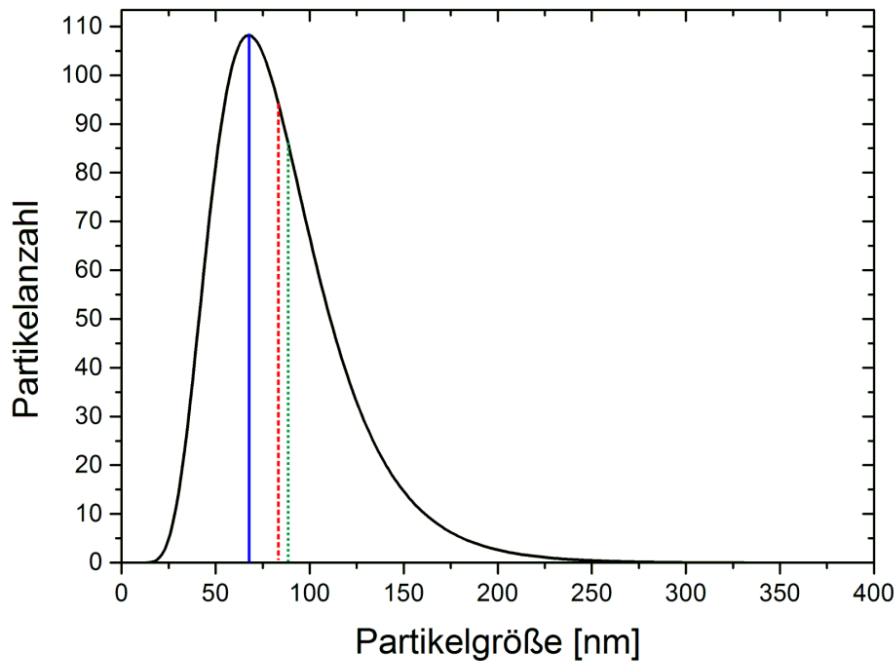


Abbildung 11: Schematische Darstellung des Modus (blau durchgehende Linie), Median (rot gestrichelte Linie) und des arithmetischen Mittels (grün gepunktete Linie) einer Log-Normal-verteilten Funktion.

Besitzt die Funktion eine symmetrische Verteilung wie bei einer Gauß-Funktion, so fallen alle drei Werte, also der Modus, Median und das arithmetische Mittel, aufeinander⁽¹³⁵⁾. Wird die Veränderung einer Partikelgrößenverteilung während einer Agglomerationsmessung beobachtet, so zeigt sich, dass die größere Fraktion zu Gunsten der kleineren Fraktion wächst.

3.3.2. Dynamische Lichtstreuung

Bei der dynamischen Lichtstreuung wird ein monochromatischer Laserstrahl direkt auf die Messzelle mit der zu untersuchenden Partikel-Suspension ausgerichtet. Dabei wird die zeitabhängige Fluktuation der gemessenen Streulichtintensitäten detektiert, die wiederum durch die Brown'sche Molekularbewegung der einzelnen Partikel erzeugt wird. Die beobachteten Intensitätsschwankungen sind größenabhängig, da verschieden große Partikel unterschiedlich große Diffusionskoeffizienten aufweisen. Aus den gemessenen Fluktuationen kann eine Autokorrelationsfunktion berechnet werden, welche durch anschließende Anpassung einer theoretischen Korrelationsfunktion die Bestimmung von Diffusionskoeffizienten und den damit verbundenen Äquivalentdurchmessern ermöglicht. Bei

dem Verfahren der Autokorrelation wird ein Signal mit sich selbst verglichen, um so Abweichungen von periodisch auftretenden Prozessen zu detektieren.

Die DLS-Methode findet heutzutage eine Vielzahl von Anwendungen im Bereich der Charakterisierung von kolloidalen Lösungen. Diese reichen von der Größenbestimmung von Partikeln in Lösung⁽¹³⁶⁾ bis hin zur Charakterisierung von Partikeln in biologischen Medien⁽⁴²⁾. Allerdings beinhaltet diese Methode auch diverse Problematiken. Zum einen muss die zu untersuchende Lösung eine geringe Partikelkonzentration aufweisen, um multiple Streueffekte zu vermeiden⁽¹³⁷⁾. Zum anderen werden beim Auftreten größerer Partikel hauptsächlich die Streueffekte eben dieser Partikel beobachtet, da die Streuintensität mit der sechsten Potenz des Radius einhergeht. Dies kann somit zu verfälschten Ergebnissen führen.

3.3.2.1. Von der Autokorrelation zur Partikelgröße

Wird Laserlicht durch eine Küvette geleitet, in der sich eine kolloidale Lösung befindet, wird das Licht aufgrund der im Kapitel 3.2. beschriebenen Effekte gestreut. In der folgenden Abbildung lässt sich erkennen, dass die kolloidale Lösung eine deutliche Streuung zeigt⁽¹¹²⁾.

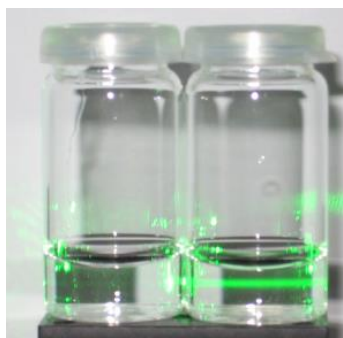


Abbildung 12: Lichtstreuung an Partikeln ($r \ll \lambda$). Die kolloidale Suspension (rechts) zeigt deutliche Streueffekte, wohingegen bei der wässrigen Lösung (links) keine Streueffekte zu erkennen sind.

Das an den Partikeln gestreute Licht kann zur Charakterisierung einer Partikelsuspension verwendet werden. Durch die Brown'sche Molekularbewegung^(112,123,125,138) der einzelnen Kolloide fluktuiert die gestreute Lichtintensität. Dadurch, dass sich die Partikel in einer ständigen Bewegung befinden, verlassen einige Partikel das Fokusvolumen. Ebenso diffundieren neue Partikel in das Volumen hinein. Werden diese Partikel einzeln gezählt, resultiert ein Fluktuationsdiagramm.

Die folgende Abbildung stellt eine stark vereinfachte Darstellung des Prinzips anhand einer perfekt monodispersen Partikelsuspension dar:

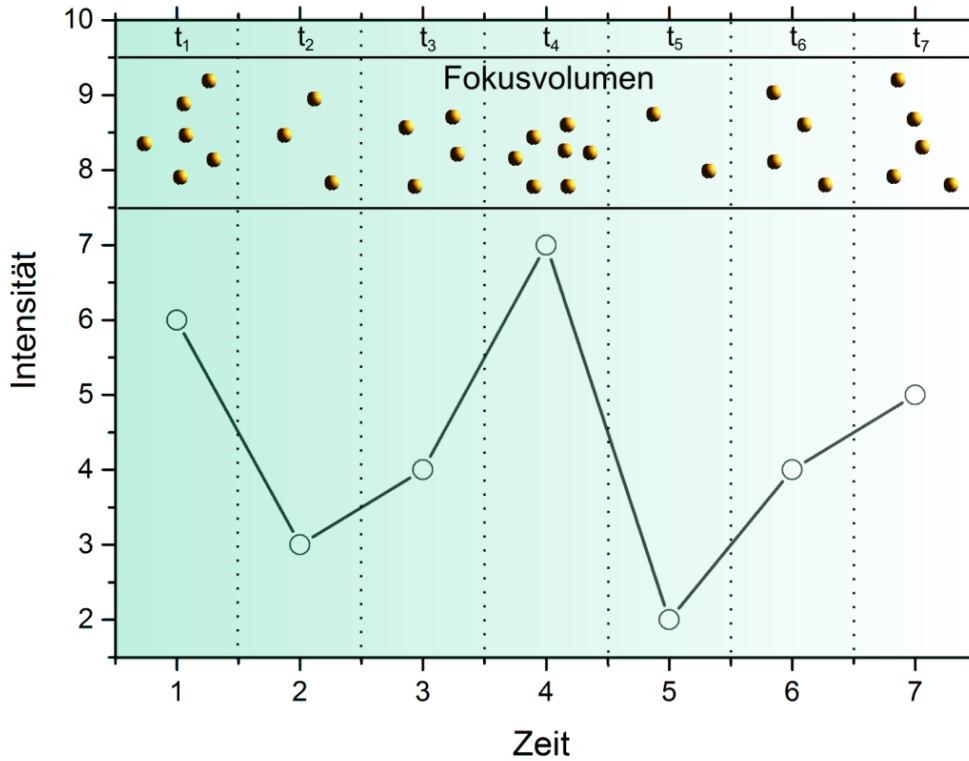


Abbildung 13: Schematische Darstellung zur Erklärung des Messprinzips einer DLS.

Die dynamische Lichtstreuung nutzt dieses Prinzip. Allerdings werden hierbei nicht die einzelnen Partikel gezählt, sondern es wird die Änderung des Streulichts der im Fokus befindlichen Partikel detektiert. Die Zeitabhängigkeit dieser Fluktuationen kann anhand der folgenden Intensitätskorrelationsfunktion beschrieben werden^(139,140):

$$\langle I(t) \cdot I(t + \tau) \rangle = \frac{1}{t_M} \int_0^{t_M} I(t) \cdot I(t + \tau) dt \quad (3.3.18)$$

Die Autokorrelationsfunktion stellt den Ensemble-Mittelwert des Produktes der Lichtintensitäten I zwischen dem Zeitpunkt $t = 0$ und einem späteren Zeitpunkt $(t + \tau)$ dar ($I(t) \cdot I(t + \tau)$). Durch Division von Gleichung (3.3.18) durch das mittlere Intensitätsquadrat $\langle I(t) \rangle^2$ ergibt sich die normierte Intensitätsautokorrelationsfunktion $g_2(\tau)$ ^(139,140).

$$g_2(\tau) = \frac{\langle I(t)I(t+\tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2} \quad (3.3.19)$$

Da die bei der dynamischen Lichtstreuung gemessenen Intensitäten am Detektor allerdings proportional zur elektrischen Feldamplitude $E(t)$ des Detektors sind, wird die normierte Autokorrelationsfunktion des elektrischen Feldes $g_I(\tau)$ betrachtet^(139,140):

$$g_I(\tau) = \frac{\langle E(t)E(t+\tau) \rangle}{\langle E(t) \rangle^2} \quad (3.3.20)$$

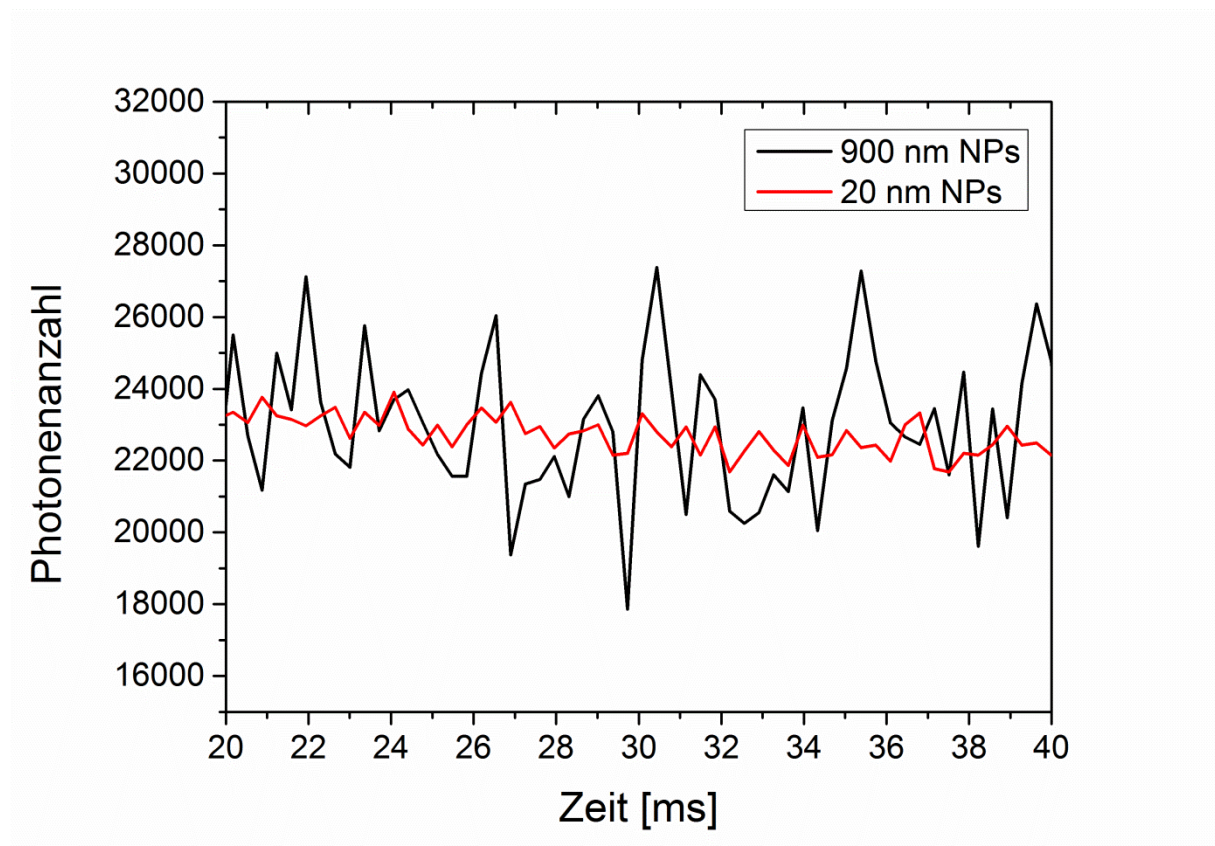


Abbildung 14: Gemessene Korrelationsfunktionen einer 900 nm Polystyrol- und einer 20 nm Goldpartikelsuspension.

Kleine Verzögerungszeiten ergeben eine hohe Korrelation und größere eine sehr kleine Korrelation. Dies lässt sich durch die unterschiedlichen Diffusionsgeschwindigkeiten der einzelnen Partikelfractionen erklären. Kleine Partikel diffundieren schnell und besitzen deshalb kleine Korrelationszeiten, große Partikel hingegen diffundieren langsamer und besitzen somit größere Korrelationszeiten.

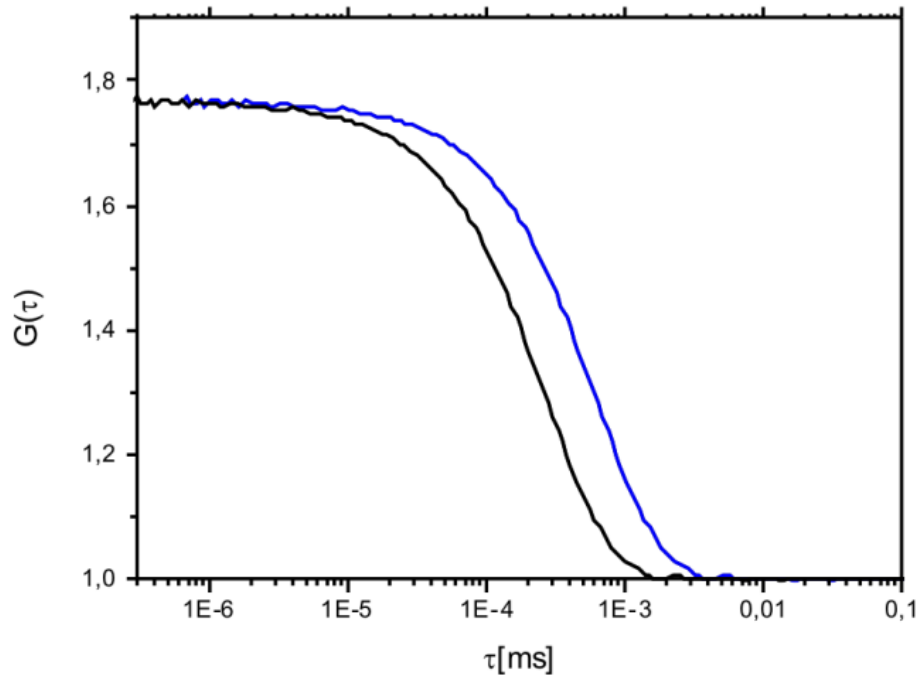


Abbildung 15: Schematische Darstellung zweier Korrelationsfunktionen unterschiedlich großer Partikelsuspensionen (schwarze Funktion [nm] < blaue Funktion [nm]).

Somit kann aus dem Abfall der Korrelationsfunktion der Diffusionskoeffizient der Partikel im Fokusvolumen bestimmt werden. Der Winkel zwischen absoluter Korrelation und abfallender Korrelation gibt zudem Hinweise auf die Dispersität der untersuchten kolloidalen Suspension.

Um nun aus den Korrelationsfunktionen Verteilungsbreiten zu erhalten, wird zunächst von einem exponentiell abfallenden System monodisperser Teilchen ausgegangen. Aus der sogenannten Siegert-Beziehung⁽¹⁴¹⁾, welche die Autokorrelationsfunktion des elektrischen Feldes $g_1(\tau)$ mit der Autokorrelationsfunktion der Intensität $g_2(\tau)$ verknüpft^(140,142), folgt:

$$g_2(\tau) = 1 + b g_1(\tau)^2 \quad (3.3.21)$$

Der Faktor b beschreibt hier eine vom Laser-Setup abhängige Konstante. Es ergibt sich:

$$g_1(\tau) = e^{(-q^2 D t)} \quad (3.3.22)$$

Nun kann aus einem exponentiellen Fit und der Kenntnis des Streuvektors q ,

$$q = \left(\frac{4\pi m}{\lambda} \right) \sin\left(\frac{\Theta}{2}\right) \quad (3.3.23)$$

die Diffusionsgeschwindigkeit der Teilchen einer monodispersen kolloidalen Lösung bestimmt werden⁽¹⁴⁰⁾. Hierzu beschreibt m den Brechungsindex der Lösung, λ die Wellenlänge des einfallenden monochromatischen Lichts und Θ den Streuwinkel zwischen einfallendem Laserstrahl und Detektor.

Da allerdings immer eine Verteilungsbreite in einer kolloidalen Lösung vorliegt, wird bei Untersuchungen von Korrelationsfunktionen häufig der sogenannte Polydispersitäten-Ansatz verwendet. Hierzu wird zunächst eine Log-Normale-Partikelverteilung, wie in Abschnitt 3.3.1.3. beschrieben, angenommen. Dies ergibt mit Gleichung (3.3.22)⁽¹³⁷⁾:

$$g_I(t) = \int G_I(r) e^{(-q^2 D(r)t)} dr \quad (3.3.24)$$

Mit der Variablentransformation wird folgender Ansatz für den Polydispersitäten-Ansatz 2.Ordnung einer Log-Normal-verteilten Partikelsuspension erhalten^(137,143):

$$g_I(t) = \int G_I(\Gamma) e^{(-\Gamma t)} d\Gamma \quad (3.3.25)$$

Diese Gleichung lässt sich weiter umformen^(137,143):

$$g_I(t) = e^{(-\Gamma' t)} \int G_I(\Gamma) e^{-(\Gamma - \Gamma')t} d\Gamma \quad (3.3.26)$$

Hier beschreibt Γ' den Erwartungswert des ersten Moments der Verteilungsfunktion Γ . Anschließend wird der Term $\exp(-(\Gamma - \Gamma')t)$ durch eine Reihenentwicklung ersetzt.

$$g_I(t) = e^{(-\Gamma' t)} \int G_I(\Gamma) \left\{ 1 - (\Gamma - \Gamma')t + \frac{1}{2!}(\Gamma - \Gamma')^2 t^2 - \frac{1}{3!}(\Gamma - \Gamma')^3 t^3 + \dots \right\} d\Gamma \quad (3.3.27)$$

Diese wird nach dem quadratischen Term abgebrochen, um anhand der Intensitätsautokorrelationsfunktion des elektrischen Feldes eine Log-Normale-Partikelverteilung mit folgender Näherung zu beschreiben^(137,143):

$$g_I(t) \approx A \left(1 + \gamma e^{(-2\Gamma t)} \left(1 + \frac{k_2}{2!} t^2 \right)^2 \right) \quad (3.3.28)$$

A beschreibt hier die Fläche unterhalb der Verteilung und k_2 die Varianz der Verteilungsfunktion.

Um nun den Erwartungswert der Verteilungsfunktion mit dem Streuvektor und dem Diffusionskoeffizienten D zu verknüpfen, wird die Landau-Placzek-Beziehung verwendet⁽¹⁴⁴⁾:

$$\Gamma = Dq^2 \quad (3.3.29)$$

Der gemittelte hydrodynamische Radius der untersuchten Partikelsuspension lässt sich wiederum anhand der Stokes-Einstein-Gleichung (3.3.15) bestimmen⁽¹¹⁶⁾.

$$r_H = \frac{q^2 RT}{6N_A \pi \eta \Gamma} \quad (3.3.30)$$

Um die vollständige Log-Normal-Verteilung der vorliegenden kolloidalen Suspension zu beschreiben, werden zudem die geometrische Standardabweichung σ_g und der geometrische Mittelwert x_g benötigt. Die geometrische Standardabweichung lässt sich aus der Varianz und dem Erwartungswert der Verteilungsfunktion durch folgende Formel gewinnen:

$$\sigma_g = e^{\left(\sqrt{\ln\left(1 + \frac{k_2}{\Gamma^2}\right)} \right)} \quad (3.3.31)$$

Der benötigte geometrische Mittelwert x_g lässt sich anschließend anhand der Standardabweichung und des mittleren hydrodynamischen Radius r_h berechnen^(137,143):

$$x_g = 2r_h e^{\left(-\frac{\ln(\sigma_g)^2}{2} \right)} \quad (3.3.32)$$

3.4. Anwendungen kolloidchemischer Grundlagen auf nanopartikuläre Systeme

3.4.1. Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek (DLVO)-Theorie

Die DLVO-Theorie^(145,146) bietet eine Möglichkeit, die Stabilität eines kolloidalen Systems einzuschätzen. Befindet sich ein sphärisches Partikel in einem wässrigen Medium, so müssen hierzu verschiedene auf die Kolloide wirkende repulsive und attraktive Kräfte berücksichtigt werden. In diesem Kapitel wird zunächst auf die einzelnen wirkenden Kräfte eingegangen, um letztendlich das Zusammenspiel der kurzreichenden und der langreichenden Effekte genauer zu erläutern.

3.4.1.1. Van-der-Waals Kräfte zwischen Oberflächen

Die wichtigste Kraft, welche in einem kolloidalen System wirkt, ist die van-der-Waals Kraft. van-der-Waals Kräfte einzelner Moleküle oder Atome sind kurzreichend und fallen in der Regel ab einem Abstand von circa 1 nm äußerst stark ab. Zudem sind diese wirkenden Kräfte ausschließlich attraktiver Natur, das heißt, würden nur diese Kräfte in einem kolloidalen System auftreten, würde es spontan agglomerieren⁽¹⁴⁷⁾.

Um die von zwei sphärischen Objekten ausgehenden van-der-Waals-Kräfte genauer zu erläutern, wird zunächst der einfache Fall der attraktiven van-der-Waals-Wechselwirkung zwischen zwei Atomen betrachtet. Diese Wechselwirkung lässt sich durch das sogenannte Paar-Potential beschreiben^(147,148):

$$w(d) = -\frac{C}{d^n} \quad (3.4.1)$$

Hierbei beschreibt $w(d)$ die freie Energie in Bezug zum Abstand der betrachteten Atome d und C einen Parameter für die Wechselwirkung zweier Partikel. Im Falle der wirkenden attraktiven van-der-Waals-Kräfte gehen diese invers mit der 6ten-Potenz des Abstands ein⁽¹⁴⁷⁾. Mit der Annahme, dass diese Art der Interaktion additiv wirkt, können, ausgehend von dieser einfachen Relation in Gleichung (3.4.1), die Wechselwirkungen der Oberflächen von verschiedenen Objekten berechnet werden.

Hierfür wird zunächst über alle Atome, welche sich in der Querschnittsfläche $dx dz$ mit dem Radius x befinden, integriert, um so die gesamte Wechselwirkungsenergie $w(d)$ des betrachteten Objekts zu erfassen⁽¹⁴⁷⁾.

$$w(d) = -2\pi C \rho \int_{z=d}^{z=\infty} dz \int_{x=0}^{x=\infty} \frac{x dx}{(z^2 + x^2)^{n/2}} = \frac{2\pi C \rho}{(n-2)} \int_d^{\infty} \frac{dz}{z^{n-2}} = -\frac{2\pi C \rho}{(n-2)(n-3)d^{n-3}} \quad (3.4.2)$$

Da, wie bereits erwähnt, für die betrachteten van-der-Waals-Kräfte $n=6$ gilt⁽¹⁴⁹⁾, lassen sich die Wechselwirkungen eines Atoms mit einer planaren Oberfläche anhand Gleichung (3.4.2) beschreiben⁽¹⁴⁷⁾.

$$w(d) = -\frac{\pi C \rho}{6d^3} \quad (3.4.3)$$

Hierbei wird zusätzlich der Abstand d zwischen Atom und Oberfläche sowie die Teilchenzahldichte der Atome ρ in der festen planaren Oberfläche berücksichtigt⁽¹⁴⁷⁾.

Bestehen die wechselwirkenden Komponenten aus mehreren Atomen, so kann die Konstante C auch durch die materialabhängige Hamaker-Konstante⁽¹⁴⁹⁾ A_H substituiert werden. Sie beschreibt die Größe der van-der-Waals Kräfte, die zwischen zwei Objekten mit den atomaren Teilchenanzahldichten ρ_1 und ρ_2 wirken.

$$A_H = \pi^2 C \rho_1 \rho_2 \quad (3.4.4)$$

Typischerweise liegen die Werte der Hamaker-Konstanten für viele Materialien im Bereich um 10^{-19} Joule^(147,149).

Um die zwischen zwei sphärischen Partikeln auftretenden van-der-Waals-Kräfte zu beschreiben, muss zudem das sogenannte „Chord-Theorem“⁽¹⁴⁷⁾ berücksichtigt werden. Das Chord-Theorem beschreibt die effektive Kontaktfläche zweier perfekt sphärischer Partikel unter Berücksichtigung der vorliegenden Solvatmoleküle. Eine schematische Darstellung des Chord-Theorems lässt sich in der folgenden Abbildung finden:

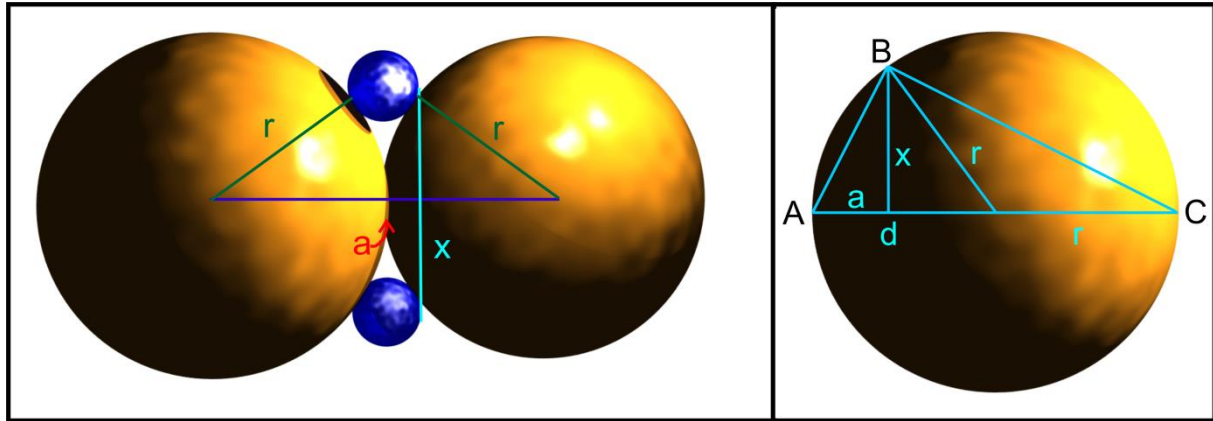


Abbildung 16: Modell zur Bestimmung der effektiven Kontaktfläche zweier sphärischer Objekte unter Berücksichtigung der vorhandenen Solvatmoleküle (nach Israelachvili⁽¹⁴⁷⁾).

Durch Anwendung des Satzes von Pythagoras kann folgende Interaktionsfläche bestimmt werden⁽¹⁴⁷⁾:

$$(\overline{AC})^2 = (\overline{AB})^2 + (\overline{BC})^2 = (\overline{Ad})^2 + (\overline{Bd})^2 + (\overline{Bd})^2 + (\overline{dC})^2 \quad (3.4.5)$$

Um die effektive Kontaktfläche mit dem Radius a , welche sich zwischen den sphärischen Objekten befindet und die vorhandenen Solvatmoleküle mitberücksichtigt, zu beschreiben, muss πx^2 in Abhängigkeit des Partikelradius r und a bestimmt werden. Hierzu lässt sich Gleichung (3.4.5) folgendermaßen umformen:

$$4r^2 = a^2 + 2x^2 + (2r - a)^2 \quad (3.4.6)$$

Unter der Annahme, dass $r \gg a$ ist, lässt sich Ausdruck (3.4.6) zu folgender Gleichung vereinfachen:

$$x^2 = (2r - a)a \approx 2ra \quad (3.4.7)$$

Dies ergibt für die Interaktionsfläche einen Wert von $\pi x^2 = 2\pi ra$. Nun lassen sich die zwischen sphärischen Objekten herrschenden Wechselwirkungen berechnen⁽¹⁴⁷⁾.

Unter Berücksichtigung von Gleichung (3.4.2) und (3.4.7) ergibt sich⁽¹⁴⁷⁾:

$$w(d) = -\frac{2\pi^2 C \rho^2}{(n-2)(n-3)} \int_0^\infty \frac{2rzdz}{(d+z)^{n-3}} = -\frac{4\pi^2 C \rho^2 r}{(n-2)(n-3)(n-4)(n-5)d^{n-5}} \quad (3.4.8)$$

Da hier wiederum für die wirkenden van-der-Waals-Kräfte $n=6$ gilt:

$$w(d) = \frac{-\pi^2 C \rho^2 r}{6d} \quad (3.4.9)$$

Die Interaktionsenergie hängt nun im Gegensatz zu der atomaren Betrachtung vom Radius r der Kugel ab und sinkt mit $1/d^{(150)}$. Dies zeigt zudem, dass der additive Charakter der gesamten van-der-Waals-Wechselwirkung bei größeren Objekten zu einer zunehmenden Reichweite führt. Diese Gleichung lässt sich durch Einsatz der Hamaker-Konstante aus Gleichung (3.4.4) zu folgender Gleichung vereinfachen:

$$w(d) = \frac{-A_H r}{6d} \quad (3.4.10)$$

Betrachtet man Wechselwirkungen von sehr kleinen mit großen Partikeln, so kann die zweite Kontaktfläche als planar angesehen werden und somit Gleichung (3.4.10) verwendet werden. Bei der Betrachtung zweier sphärischer Partikel ähnlicher Größe muss zusätzlich der Radius der zweiten Sphäre berücksichtigt werden. Somit ergibt sich aus Gleichung (3.4.2) mit $n=6^{(147)}$:

$$w(d) = \frac{-A_H}{6d} \left(\frac{r_1 r_2}{r_1 + r_2} \right) \quad (3.4.11)$$

Um anhand der Wechselwirkungsenergie $w(d)$ eine Kraft $F(d)$ zu berechnen, kann die Derjaguin-Approximation^(145,151,152) verwendet werden.

$$F(d) = 2\pi \cdot r \cdot w(d) \quad (3.4.12)$$

Dieser einfache Ansatz lässt sich durch die sogenannte Lifshitz-Theorie⁽¹⁵³⁾ erweitern, welche die Wechselwirkungen der benachbarten Atome und Objekte berücksichtigt und zudem auf die dielektrischen Konstanten und den Brechungsindex des Mediums eingeht. Da van-der-Waals-Kräfte elektrostatischer Natur sind und durch fluktuierende Dipole entstehen, vermögen sie einen weiteren Dipol in einem benachbarten Atom zu induzieren. Diese

„Reflektion“ der elektrostatischen Energie tritt bei Materialien mit einer höheren Polarisierbarkeit, wie zum Beispiel bei Metallen und Metalloxiden, wesentlich stärker auf als bei Materialien, die eine niedrige Polarisierbarkeit aufweisen⁽¹⁴⁷⁾.

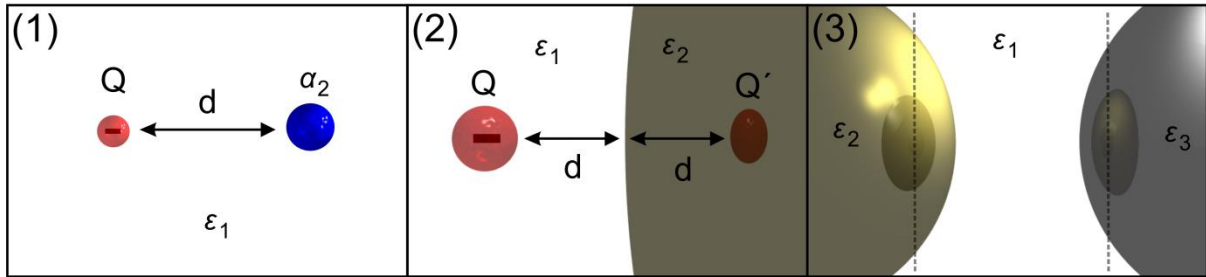


Abbildung 17: (1) Eine Ladung interagiert mit einem neutralen Molekül, da das Feld durch das polarisierte Molekül reflektiert wird. (2) Eine Ladung interagiert mit einer Oberfläche. Das Feld wird hier ebenfalls reflektiert und verhält sich, als gäbe es im Abstand $2D$ eine „Spiegel“-Ladung Q' . (3) Zwei unterschiedliche Oberflächen sehen ein reflektiertes Abbild. Dies erhöht die zwischen diesen Objekten wirkenden van-der-Waals-Kräfte (nach Israelachvili⁽¹⁴⁷⁾).

Die Wechselwirkungsenergie $w(d)$ einer Ladung Q mit einem Molekül in einem Medium 1 (mit ϵ_1) lässt sich folgendermaßen beschreiben⁽¹⁴⁷⁾:

$$w(d) = -\frac{C}{d^n} = -\frac{Q^2 \alpha_2}{2(4\pi\epsilon_0\epsilon_1)^2 d^4} \quad (3.4.13)$$

Hier beschreibt α_2 die Polarisierbarkeit des Moleküls im Medium 1 und ϵ_1 die Dielektrizitätskonstante des Mediums (Abbildung 17 (1)). Wird das Molekül nun durch ein Objekt ersetzt, kann die Wechselwirkungsenergie zwischen der Ladung Q im Medium 1 (mit ϵ_1) und der Oberfläche des Objekts 2 (mit ϵ_2) wieder anhand Gleichung (3.2) bestimmt werden⁽¹⁴⁷⁾ (Abbildung 17 (2)):

$$w(d) = -\frac{\pi Q^2 \rho_2 \alpha_2}{2(4\pi\epsilon_0\epsilon_1)^2 d} \quad (3.4.14)$$

Wird dieses Bild nun um ein weiteres Objekt erweitert, welches sich in unmittelbarer Nähe zu Objekt 2 (mit ϵ_2) befindet, so erfährt die Oberfläche des hinzugekommenen Objektes eine „gespiegelte Ladung“ der Stärke $-Q(\epsilon_2 - \epsilon_1)/(\epsilon_2 + \epsilon_1)$ und die Wechselwirkungsenergie wird zu⁽¹⁴⁷⁾ (Abbildung 17 (3)):

$$w(d) = \frac{-Q^2}{(4\pi\epsilon_0\epsilon_1)d} \left(\frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + \epsilon_1} \right) \quad (3.4.15)$$

Die resultierende Hamaker-Konstante lässt sich nun anhand der von McLachlan^(154,155) aufgestellten Theorie (Beschreibung der van-der-Waals-Energie zweier Objekte unter Berücksichtigung der Induktion, Orientierung und der Dispersionskräfte) darstellen.

$$w(d) = -\frac{6k_B T}{(4\pi\epsilon_0)^2 d^6} \sum_{n=0,1,2,\dots}^{\infty} \frac{\alpha_1(iv_n)\alpha_2(iv_n)}{\epsilon_1^2(iv_n)} \quad (3.4.16)$$

In dieser Gleichung beschreibt k_B die Boltzmannkonstante, T die Temperatur, α_1 und α_2 die Polarisierbarkeiten der Moleküle 1 und 2, ϵ_1 die Dielektrizitätskonstante des Mediums 1 und $\epsilon(iv_n)$ beschreibt Werte von ϵ bei imaginären Frequenzen. Dies ergibt für die Hamaker-Konstante zweier Objekte in einem Medium nach der Theorie von Lifshitz⁽¹⁴⁷⁾:

$$A_H \approx \frac{3}{4}k_B T \left(\frac{\epsilon_3 - \epsilon_1}{\epsilon_3 + \epsilon_1} \right) \left(\frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + \epsilon_1} \right) + \frac{3h}{4\pi} \int_{v_i}^{\infty} \left(\frac{\epsilon_3(iv_n) - \epsilon_1(iv_n)}{\epsilon_3(iv_n) + \epsilon_1(iv_n)} \right) \left(\frac{\epsilon_2(iv_n) - \epsilon_1(iv_n)}{\epsilon_2(iv_n) + \epsilon_1(iv_n)} \right) dv \quad (3.4.17)$$

Der erste Term gibt die Nullfrequenzenergie der van-der-Waals-Wechselwirkung und der zweite Term die Dispersionsenergie wieder. Hieraus lassen sich folgende Schlussfolgerungen für die van-der-Waals-Wechselwirkung unter Berücksichtigung der wirkenden elektrostatischen Kräfte ziehen⁽¹⁴⁷⁾:

- Die wirkenden van-der-Waals-Kräfte zwischen zwei identischen Körpern in einem Medium sind immer attraktiv.

(Die wirkenden Kräfte zweier verschiedener Körper in einem Medium können hingegen sowohl attraktiv als auch repulsiv wirken. Wird Fall 2 in Abbildung 17 betrachtet, so ergibt sich für $\epsilon_2 > \epsilon_1$ eine attraktive und für $\epsilon_2 < \epsilon_1$ eine repulsive Wechselwirkung.)

- Van-der-Waals-Kräfte in der Gasphase oder im Vakuum sind immer attraktiv.

(Dies liegt daran, dass sowohl die effektive Dielektrizitätskonstante als auch der Brechungsindex in diesem Falle gleich 1 sind.)

Somit wird ersichtlich, dass bei der Betrachtung einer kolloidalen, aus gleichen Partikeln bestehenden Suspension die attraktiv wirkenden Kräfte in der Regel dominieren. Dies hätte zur Folge, dass das System sofort agglomerieren würde. Da dies zumeist nicht der Fall ist, müssen hierbei noch andere repulsive Kräfte wirken. Diese werden in den folgenden Kapiteln erläutert.

3.4.1.2. Die elektrische Doppelschicht

Neben den zumeist attraktiven van-der-Waals-Kräften existieren noch weitere elektrostatische Kräfte zwischen den einzelnen Partikeln einer kolloidalen Suspension. Diese werden durch die Ladung, Solvation und sterische Abschirmung der einzelnen Partikel determiniert. Werden beispielsweise citrat-stabilisierte Silbernanopartikel betrachtet, so kommt es durch die Anbindung des Citrats an die Nanopartikel-Oberfläche zu einer Ladungstrennung. Die Silberoberfläche der Partikel besitzt hierbei eine positive Ladung. Da in der wässrigen Partikellösung zudem Ionen vorhanden sind, werden die gelösten Gegen-Ionen sich an der positiv geladenen Partikeloberfläche anlagern und diese somit abschirmen. Manche dieser Gegen-Ionen sind stark an die Oberfläche gebunden und befinden sich in der sogenannten Stern-Schicht⁽¹⁵⁶⁾. Aus der Verteilung der restlichen Ionen bildet sich ein Konzentrationsgradient in unmittelbarer Nähe zur Stern-Schicht aus. Diese sogenannte „Diffuse Doppelschicht“ lässt die Partikel nach außen hin neutral erscheinen⁽¹⁴⁷⁾.

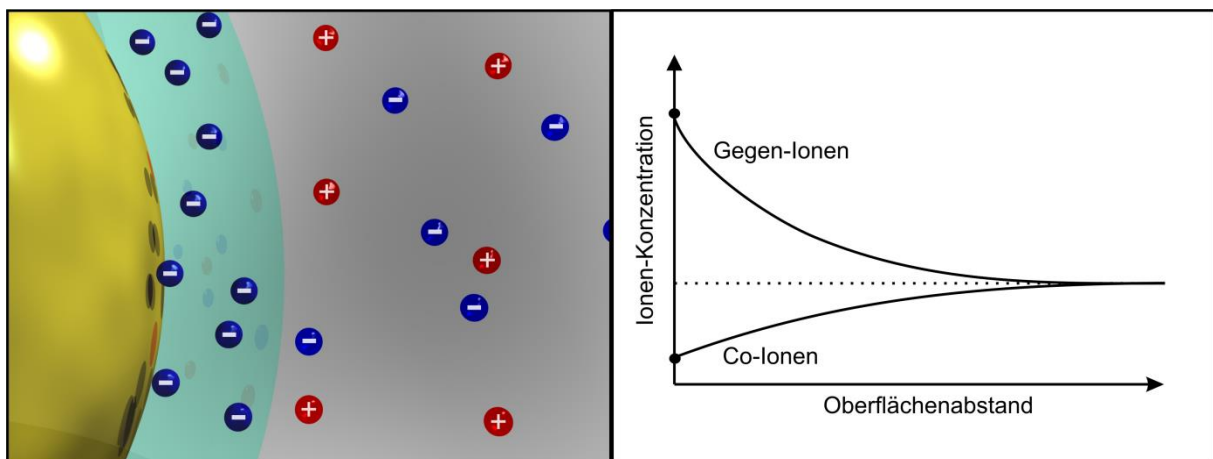


Abbildung 18: Schematische Darstellung der Akkumulation von Gegen-Ionen (hier Kationen) an einer positiv geladenen kolloidalen Oberfläche (Die gestrichelte Linie beschreibt die Bulk-Konzentration der Lösung bei $x = \infty$).

Um die Konzentration der an das Partikel anlagernden Gegen-Ionen zu berechnen, kann die Poisson-Boltzmann-Gleichung herangezogen werden⁽¹⁴⁷⁾:

$$\frac{d^2\Psi}{dx^2} = -\left(\frac{zq_e\rho_0}{\epsilon\epsilon_0}\right)e^{\left(\frac{-zq_e\Psi}{k_B T}\right)} \quad (3.4.18)$$

Die Poisson-Boltzmann-Gleichung beschreibt das Potential ψ des elektrischen Feldes E in Relation zur Konzentrationsdichte der Gegen-Ionen ρ_0 am Punkt x . Mit der Debye-Hückel-Näherung⁽¹⁵⁷⁾

$$\psi(x) = \psi_0 \exp(-\kappa x) \quad (3.4.19)$$

und

$$\kappa = \left(\frac{\varepsilon \varepsilon_0 k_B T}{2 q_e^2 \rho_e z^2} \right)^{1/2} \quad (3.4.20)$$

kann die Reichweite des elektrischen Feldes der Gegen-Ionen bestimmt werden. Der in Gleichung (3.4.20) beschriebene Faktor κ wird als Debye-Länge bezeichnet und beschreibt die charakteristische Länge, auf welcher das Potential auf das $1/e$ -fache abfällt^(147,157).

Befinden sich die Partikel in einer Lösung mit einer erhöhten Elektrolytkonzentration, so wie es bei biologischen und umweltrelevanten Medien häufig der Fall ist, kommt es zu einer Abschirmung des elektrischen Feldes und somit zu einer Verringerung der Debye-Länge und folglich auch zu einer Verringerung der Reichweite der Gegen-Ionen enthaltenden Schicht. Aus Gleichung (3.4.20) wird ersichtlich, dass die Ladung und die Konzentration des Elektrolyten hierbei eine große Rolle spielen. Dies hat zur Folge, dass mit einer erhöhten Ladung und Konzentration des Elektrolyten eine Verringerung der repulsiven Barriere einhergeht, was wiederum zu einer Destabilisierung der kolloidalen Lösung führt.

Befinden sich zwei kollidierende Partikel in einem sehr geringen Abstand zueinander, so existiert nicht nur die zuvor erwähnte elektrostatische Kraft sondern auch eine Kraft, die auf den überschüssigen osmotischen Druck P_{os} der Ionen, welche sich zwischen diesen Oberflächen befinden, zurückzuführen ist.

Dieser lässt sich folgendermaßen berechnen⁽¹⁴⁷⁾:

$$P_{os} = 64 k_B T \rho_0 \tanh^2 \left(\frac{ze\Psi_0}{4k_B T} \right) e^{-(\kappa D)} \quad (3.4.21)$$

Das Zusammenführen all dieser attraktiven und repulsiven Kräfte wird anhand der DLVO-Theorie^(145,146) durchgeführt. Diese von Derjaguin, Landau, Verwey und Overbeek zusammenfassend berechneten elektrostatischen Kräfte erlauben eine präzise Evaluierung der

Stabilität eines ladungsstabilisierten kolloidalen Systems, da bei Vorhandensein eines Elektrolyten die elektrische Doppelschicht aber nicht die additiv wirkende van-der-Waals-Kraft verändert wird.

3.4.1.3. Kombination der auftretenden attraktiven und repulsiven elektrostatischen Kräfte (die DLVO-Theorie)

Das additive Zusammenspiel der elektrostatischen Wechselwirkungen ist in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt:

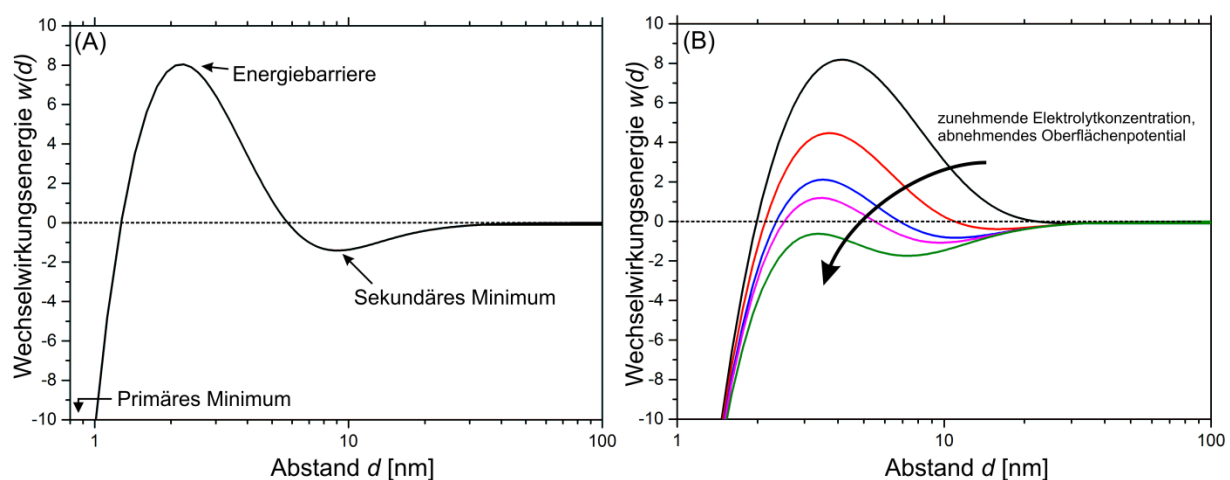


Abbildung 19: Schematische Darstellung der DLVO-Wechselwirkungen (normiert durch $k_B T$) zwischen zwei Nanopartikeln. (A) Erfolgt die Annäherung bis zum sekundären Minimum, erfolgt eine langsame Agglomeration. (B) Die Veränderung des Oberflächenpotentials mit zunehmender Elektrolytkonzentration führt schließlich zum Erreichen des primären Minimums, was in einer schnellen Agglomeration resultiert (Eigene Berechnungen mit der Software Hamaker 2.2⁽¹⁵⁸⁾).

Erfolgt die Annäherung (Abbildung 19 (A)) bis hin zum sekundären Minimum, befinden sich die Partikel in einem kinetisch stabilen Zustand⁽¹⁵⁹⁾. Hier findet die sogenannte „weiche“ Agglomeration statt, und die primären Partikel werden durch schwache van-der-Waals-Wechselwirkungen zusammengehalten. Die hier vorherrschenden Wechselwirkungskräfte führen dazu, dass die Partikel zwar aneinander haften, diese aber in der Regel durch Behandlung der Partikelsuspension mit Ultraschall oder thermischer Energie leicht wieder voneinander getrennt werden können. Auch auftretende Scherkräfte können zu einem Zerfall des „weichen“ Agglomerats in seine primären Partikel führen⁽¹⁶⁰⁾.

Reicht die Kraft (zum Beispiel durch Stöße) bei einer weiteren Annäherung aus, um die Energiebarriere zu überwinden, erreichen die Partikel das primäre Minimum. Dieses tiefe

Energieminimum bewirkt, dass die kolloidale Suspension aggregiert. Die Aggregation kann auch durch die Bildung eines sogenannten „harten“ Agglomerats beschrieben werden. Ein Aggregat oder auch „hartes“ Agglomerat wird durch starke elektrostatische Wechselwirkungen zusammengehalten. Dies kann sich zum Beispiel durch eine chemische Bindung oder auch durch ein Zusammensintern der primären Partikel ausdrücken⁽¹⁶⁰⁻¹⁶²⁾.

Im Teil (B) der Abbildung 19 ist das abnehmende Oberflächenpotential bei zunehmender Elektrolytkonzentration dargestellt. Besitzt die kolloidale Lösung eine geringe Elektrolytkonzentration, bildet sich noch kein sekundäres Minimum aus und, bedingt durch die hohe Energiebarriere, befinden sich die Kolloide in einem stabilen Zustand, d. h., wenn die einzelnen Partikel aufeinandertreffen findet aufgrund der repulsiven Barriere keine Agglomeration statt. Mit zunehmender Elektrolytkonzentration beginnt das Kolloid langsam instabil zu werden, bis sich ein sekundäres Minimum ausbildet und die Nanopartikel zu agglomerieren beginnen. Hier liegt der Fall vor, in dem sich die meisten Partikel der Verteilungsfunktion in einem relativ stabilen Zustand befinden. Somit ist die Wahrscheinlichkeit der Agglomeratbildung gering und das System weist eine langsame Agglomeration auf. Wird die Konzentration des Elektrolyten weiter erhöht, verschwindet die Energiebarriere vor dem primären Minimum und das System wechselt, bedingt durch die höhere Wahrscheinlichkeit der Agglomeratbildung beim Aufeinandertreffen zweier Partikel, von der langsamen zur schnellen Agglomeration⁽¹⁵⁹⁾.

3.4.2. Auftretende „Nicht-DLVO“-Kräfte

Bei der Betrachtung realer nanopartikulärer Systeme lassen sich allerdings häufig Abweichungen zu den Berechnungen der klassischen DLVO-Theorie finden⁽¹⁶³⁻¹⁶⁶⁾. Dies legt nahe, dass neben den bekannten elektrostatischen Kräften noch andere Faktoren berücksichtigt werden müssen. In der Tat lassen sich diese Abweichungen auf die sogenannten „nicht-DLVO“-Kräfte^(147,167), wie Solvatations-^(167,168), sterische^(74,169) und Fluktuationswechselwirkungen⁽¹⁷⁰⁾ zurückführen. Diese Kräfte können sowohl monoton attraktiv, repulsiv aber auch oszillatorisch wirken⁽¹⁴⁷⁾.

Je nachdem, ob die kolloidale Oberfläche hydrophil oder hydrophob ist, bildet sie mit den Molekülen der umgebenden wässrigen Lösung eine entsprechende Solvathülle aus. Nähern sich nun zwei perfekt runde Oberflächen einander an, treffen ab einem gewissen Abstand die in der Solvathülle befindlichen Moleküle aufeinander⁽¹⁴⁷⁾. Die so wirkende Kraft ist oszillatorisch und kann entweder repulsiv oder attraktiv wirken. Eine weitere Annäherung ist dann irgendwann nur noch möglich, wenn die zwischen den Partikeln befindlichen Moleküle entfernt werden. Befinden sich die Kolloide in einer wässrigen Lösung, kann von einer Hydratation gesprochen werden. Ist die kolloidale Oberfläche hingegen hydrophil, führt dies aufgrund der weitreichenderen Hydratationshülle zu einem zusätzlichen repulsiven Effekt⁽¹⁷¹⁾.

Strukturelle Effekte treten auf, da die sich an der Oberfläche anlagernden Moleküle bestimmte Orientierungen einnehmen^(74,129,172). Dies kann wiederum sowohl repulsive als auch attraktive Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Kolloiden mit sich bringen⁽¹⁴⁷⁾.

Das Zusammenspiel all dieser Faktoren entscheidet letztendlich über die Stabilität der kolloidalen Lösung. Anhand der DLVO-Theorie lassen sich erste Rückschlüsse ziehen, allerdings kann das Bild erst durch die Betrachtung aller Faktoren, also sowohl der DLVO- als auch der non-DLVO-Kräfte, komplettiert werden. Obwohl in den letzten Jahren bereits große Fortschritte durch Computersimulationen^(173,174) und angewandte Experimente^(96,147,167,175) gemacht wurden, bleibt dieses Thema ein wichtiger Bestandteil aktueller Forschung^(147,176-178).

3.4.3. Agglomerationskinetik

Dadurch, dass alle kolloidalen Nanopartikellösungen eine Brown'schen Molekularbewegung besitzen, kommt es aufgrund dieser thermischen Bewegung zu Kollisionen. Wie in den vorangegangenen Kapiteln erörtert wurde, resultieren bei der Kollision zweier Partikel abhängig von der Oberflächenladung der kollidierenden Partikel entweder attraktive oder repulsive Wechselwirkungen. Diese entscheiden darüber, ob die Partikel agglomerieren oder als einzelnes Partikel verbleiben. Die Stabilität einer Nanopartikelsuspension hängt daher von den auftretenden elektrostatischen, sterischen und van-der-Waals-Kräften zwischen den Partikeln ab⁽¹⁷⁹⁾ und kann mit der im vorigen Kapitel beschriebenen DLVO-Theorie abgeschätzt werden^(145,146).

Marian von Smoluchowski entwickelte das erste auf der DLVO-Theorie basierende theoretische Modell, welches die Kinetik der Agglomeration beschreibt⁽¹²⁶⁾. Da die Kollision zweier Partikel einen bimolekularen Prozess darstellt, handelt es sich bei der Betrachtung der Agglomeration um einen Prozess zweiter Ordnung. In seinem Modell wurde ein Partikel als statisch angenommen, in dessen Richtung eine raumsymmetrische sphärische Wolke, bestehend aus anderen Partikeln, diffundiert. Ein Agglomerat wird nun aus der Kollision des statischen Partikels mit einem anderen Partikel gebildet und anschließend aus dem System entfernt. Es wird zudem die Annahme gemacht, dass das umgebende Medium keine eigene Struktur besitzt und somit die Partikel nur durch die makroskopische Viskosität η beeinflusst werden⁽¹⁸⁰⁾. Um dieses Modell für die durch thermische Eigenbewegung der Partikel induzierte Agglomeration, auch perikinetische Agglomeration genannt, zu entwickeln, betrachtete Smoluchowski zunächst die Diffusion, welche wiederum durch das erste Fick'sche Gesetz beschrieben wird⁽⁹⁾:

$$J = -D \frac{dN}{dx} \quad (3.4.22)$$

Hierbei beschreibt J den Teilchenstromdichte, N die Teilchenanzahldichte und x die radiale Koordinate.

Da die Annahme gemacht wird, dass die Partikel durch eine Kugel mit dem Radius x wandern, führt dies zu folgender Gleichung⁽¹⁸¹⁾:

$$J_1 = -(4\pi x^2) D \frac{dN_1}{dx} \frac{dN_2}{dx} \quad (3.4.23)$$

Durch Integration dieser Gleichung wird folgender Ausdruck erhalten⁽¹⁸¹⁾:

$$J_I = -8\pi x D N_I N_2 \quad (3.4.24)$$

Bei der Betrachtung der Stoßtheorie wird ersichtlich, dass eine erfolgreiche Agglomeration nur stattfinden kann, wenn $x = 2r$ entspricht (Stoßzylinder).

$$J_I = -16\pi r D N_I N_2 \quad (3.4.25)$$

Die Agglomerationsrate für alle N -Partikel, welche sich in dem System befinden, ist durch die Zahl der Kollisionen der einzelnen Partikel untereinander gegeben. Um doppelte Wertungen der betrachteten Kollisionen zu vermeiden (je zwei Partikel in einer Kollision), muss zudem der Faktor $\frac{1}{2}$ in Formel (3.4.25) eingefügt werden. Diese Annahme führt zu folgendem Ausdruck⁽¹⁸¹⁾. Im Falle, dass die kollidierenden Partikel gleich sind, kann $N_1 = N_2 = N_0$ eingesetzt werden; dies führt dann zu:

$$J_A = -8\pi r D N_0^2 \quad (3.4.26)$$

Wird nun die Diffusion in Gleichung (3.4.26) durch die Stokes-Einstein-Gleichung (3.3.15) beschrieben, ergibt sich folgender Ausdruck für das Anfangsstadium eines perikinetisch agglomerierenden Systems⁽¹⁵⁹⁾ (bestehend aus gleichgroßen Partikeln):

$$J_{peri} = -\frac{4k_B T}{3\eta} N_0^2 \quad (3.4.27)$$

Für ein System, in dem jede Kollision zweier Partikel zu einem Agglomerat führt, postulierte Smoluchowski folgenden Ausdruck für eine maximale Geschwindigkeitskonstante^(96,126,159):

$$k_{a,max} = \frac{4k_B T}{3\eta} \quad (3.4.28)$$

In dieser Gleichung beschreibt k_B die Boltzmann Konstante, T die absolute Temperatur und η die Viskosität des Mediums.

Unter der Annahme, dass der Kollisionskoeffizient während des gesamten Agglomerationsprozesses konstant bleibt, führt dies zu folgendem differentiellen Geschwindigkeitsgesetz^(96,159):

$$\frac{dN}{dt} = -k_{a,max} N_0^2 \quad (3.4.29)$$

Um die gesamte Anzahl an Partikel zu erfassen, welche sich zur Zeit t in der Lösung befinden, wird Gleichung (3.4.29) integriert^(96,159):

$$N_T = \frac{N_0}{1 + k_a N_0 t} = \frac{N_0}{1 + \frac{t}{t_a}} \quad (3.4.30)$$

Wobei N_0 die initiale Partikelkonzentration der primären Partikel beschreibt und t_a die Halbwertszeit darstellt. (in der die Partikelanzahl auf die Hälfte ihres Anfangswerts gesunken ist.) Es gilt^(96,159):

$$t_a = \frac{1}{k_a N_0} \quad (3.4.31)$$

und damit:

$$k_a = \frac{1}{t_a N_0} \quad (3.4.32)$$

Wenn nun jede Kollision zu der Bildung eines Agglomerats führt, kann dieser Gleichung mit Ausdruck (3.4.28) gleichgesetzt werden^(96,159):

$$k_{a,max} = \frac{4k_B T}{3\eta} = \frac{1}{t_{a,min} N_0} \quad (3.4.33)$$

Tritt jedoch der Fall auf, dass nicht jede Kollision zweier Partikel zur Bildung eines Agglomerats führt, so vergrößert sich die Halbwertszeit t_a entsprechend und die Geschwindigkeitskonstante k_a wird reduziert. Die Kollisionseffizienz kann nun durch folgenden Ausdruck beschrieben werden^(96,159):

$$\frac{\text{reduzierte perikinetische Kollisionsrate}}{\text{maximale perikinetische Kollisionsrate}} = \frac{k_a}{k_{a,max}} \quad (3.4.34)$$

Neben der beschriebenen perikinetischen Agglomeration, welche nur durch die Brown'sche Molekularbewegung hervorgerufen wird, existiert noch die sogenannte orthokinetische Agglomeration⁽¹⁵⁹⁾. Die orthokinetische Agglomeration wird durch Strömungen und die damit verbundenen, auftretenden Scherkräfte initiiert. Agglomerieren Partikel unter orthokinetischen Bedingungen, zum Beispiel in einem Strömungsreaktor, so müssen hier zwei essentielle Dinge beachtet werden. Zum einen befinden sich die Partikel in einem Strömungsfeld, welches sich in unterschiedliche Schichten mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten fortbewegt und zum anderen müssen die auftretenden Scherkräfte G_S berücksichtigt werden. Unter der Annahme, dass die sphärischen Partikel sich in einem uniformen laminaren Strömungsfeld befinden, lässt sich die Kollisionsfrequenz wie folgt beschreiben⁽¹⁸²⁾:

$$J_{ortho} = -\frac{16}{3} N_T^2 G_S r^3 \quad (3.4.35)$$

Da die Kollisionsrate stark von der Partikelgröße abhängt, lässt sich Gleichung (3.4.35) nur auf das Anfangsstadium einer Agglomeration anwenden. Mit der Annahme einer konstanten Volumenfraktion lässt sich Gleichung (3.4.35) durch eine einfache Transformation auf ein agglomerierendes System anwenden⁽¹⁸²⁾.

Mit der Volumenfraktion:

$$\phi = \frac{4\pi r^3 N_T}{3} \quad (3.4.36)$$

und der Annahme, dass diese konstant bleibt, ergibt sich folgender Ausdruck⁽¹⁵⁹⁾:

$$\frac{dN_T}{dt} = -\frac{4G_S \Phi t}{\pi} \quad (3.4.37)$$

Allerdings besitzt die Annahme, dass die Volumenfraktion konstant bleibt, hierbei keine absolute Gültigkeit. Durch die Bildung fraktaler Aggregate entstehen Strukturen, welche voluminöser als die der primären Partikel erscheinen. Somit ist das Modell des orthokinetischen Falls mit einem größeren Fehler behaftet als die Betrachtung eines perikinetisch agglomerierenden Systems⁽¹⁵⁹⁾.

3.4.4. Fraktale Agglomerate

Wenn zwei Partikel in einer kolloidalen Lösung agglomerieren, bilden sie fraktale Strukturen aus und besitzen somit nicht den doppelten hydrodynamischen Radius. In diesem Aggregat, bestehend aus identischen Partikeln, ist die Masse direkt proportional zur Anzahl der Partikel, welche das Aggregat gebildet haben. Ein Agglomerat, bestehend aus einer Anzahl primärer Partikel i mit den Radius a_i , lässt sich folgendermaßen durch einen sogenannten Rotationsradius R_g beschreiben⁽¹⁵⁹⁾:

$$i = B \left(\frac{R_g}{a_i} \right)^{D_M} \quad (3.4.38)$$

Wobei B eine Konstante mit dem Wert $B = 1.3 \pm 0.1$ ⁽¹⁸³⁾ und D_M die fraktale Massendimension, welche zwischen 1,7 und 2,5 liegt, darstellt. Ein Fraktal beschreibt den Unterschied zur geometrischen Menge (zum Beispiel Kugel oder Würfel) für dessen Beschreibung eine ganzzahlige Dimension nicht ausreichend ist⁽¹⁸⁴⁾. Da Nanopartikel in einem Agglomerationsprozess offene, fraktale Strukturen ausbilden, können diese Strukturen mit der fraktalen Massendimension beschrieben werden.

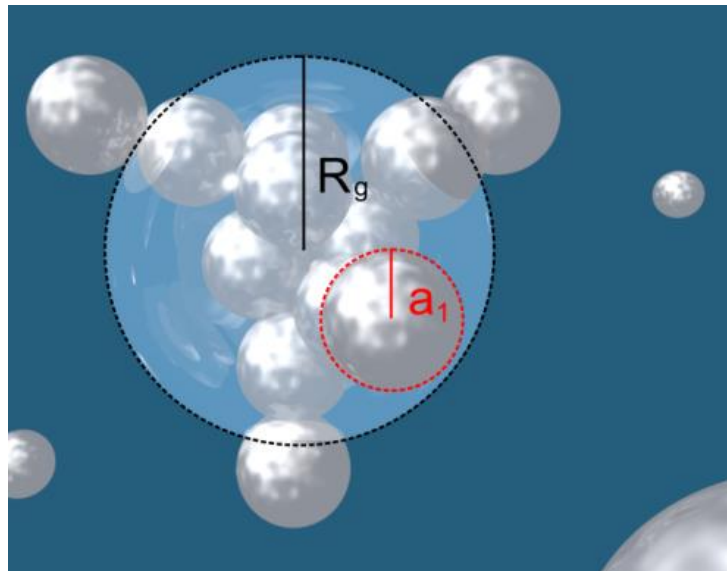


Abbildung 20: Rotationsradius R_g eines fraktalen Agglomerats errechnet aus dem Primärpartikelradius a_i .

Verläuft die vorliegende Agglomeration perikinetisch, liegt die fraktale Massendimension bei 1,7. Im orthokinetischen Fall bilden die Partikel wesentlich kompaktere Agglomerate und die Werte der fraktalen Massendimension liegen nahe bei 2,5⁽¹⁵⁹⁾.

4. Methoden und apparative Entwicklung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Apparatur entwickelt, welche eine hohe Präzision bei der Vermessung von sowohl homogenen als auch inhomogenen Partikelsuspensionen ermöglicht. Dies stellt einen großen Fortschritt dar, um das Verhalten und Vorkommen von Nanopartikeln in Umweltgewässern zuverlässig untersuchen zu können. Ebenfalls ermöglicht die entwickelte Apparatur, die Größenverteilung, Oberfläche und Partikelanzahl einer Nanopartikelsuspension genau zu charakterisieren und somit umfassende Daten über die Mobilität und die möglichen Wechselwirkungen nanopartikulärer Spezies in aquatischen Systemen zu erhalten.

Die Wahl fiel hierbei auf die Kombination einer Apparatur zur Größenbestimmung mittels Beobachtung der Brown'schen Molekularbewegung und einer Apparatur, welche die Partikelgröße anhand der dynamische Lichtstreuung eines Partikelensembles bestimmt. Diese Systeme wurden neu aufgebaut, weiterentwickelt und anschließend durch ihre Kombination verbessert. So konnten die Nachteile beider Apparaturen minimiert und deren Vorteile maximiert werden.

Das System soll folgende Vorteile gegenüber den existierenden kommerziellen Systemen bieten:

- Es sollte reale Aussagen über inhomogene Partikelsuspensionen ermöglichen, da die Partikel in der Umwelt und auch in den meisten Laboratorien und Produktionsstätten nicht absolut monodispers vorliegen.
- Die Proben sollten *in-situ* und ohne weitere Aufbereitung vermessen werden können, um mögliche Veränderungen der Partikel aufgrund von Trocknungsprozessen, Evakuierung, Fixierung usw. zu vermeiden.
- Die Messung sollte innerhalb einer einzelnen Messzelle stattfinden, um eine genauere Charakterisierung der Partikelsuspension zu einem bestimmten Zeitpunkt t zu ermöglichen, zum Beispiel für die Verwendung bei Agglomerationsmessungen.

Bei der genaueren Betrachtung der Messmethoden der einzelnen Systeme werden die Vorteile dieser Kombination ersichtlich. Da das System des Brownian-Motion-Nano-Sizers (BMNS) einzelne Partikeltrajektorien auswertet, werden bei einer polydispersen Verteilung eher die anteilmäßig häufiger vorkommenden Partikelgrößen detektiert. Somit wird, in einem

agglomerierenden System, vorzugsweise die kleinere Partikelfraktion beobachtet. Die Gewichtung einer BMNS-Messung liegt daher auf der Partikelanzahl. Die dynamische Lichtstreuung (DLS) hingegen betrachtet die Änderung des Streulichts aller im Detektionsvolumen befindlichen Partikel. Da wie in Kapitel 3.2. erläutert, die Intensität des an den Partikeln gestreuten Lichts mit der 6ten Potenz des Radius ansteigt ($I \propto r^6$), werden hier vorzugsweise größere Partikel detektiert. Die Gewichtung liegt hier auf dem Partikelvolumen der vorliegenden Partikelsuspension.

Es kann somit bei der Betrachtung von nicht exakt homogenen Partikelsuspensionen bei beiden Apparaturen zu verfälschten Ergebnissen kommen, da die BMNS die reale Größenverteilung unterbewertet und die DLS diese überbewertet.

Dies lässt sich eindrucksvoll anhand des folgenden Beispiels demonstrieren. Wird eine Partikellösung bestehend aus:

- 1000 x 10 nm Partikeln
- 100 x 100 nm Partikeln
- 10 x 1000 nm Partikeln

untersucht, ergeben sich folgende Verhältnisse für die anzahlgewichtete und die volumengewichtete Verteilung der Partikel:

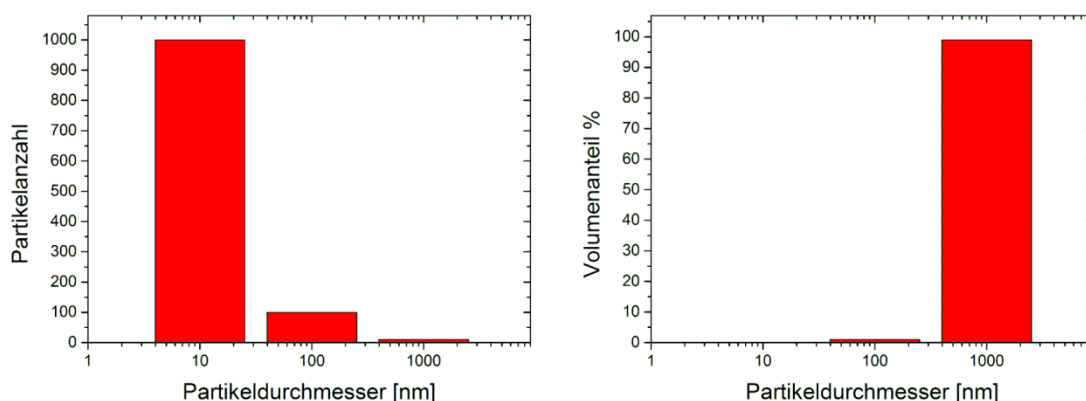


Abbildung 21: Anzahl- und volumengewichtete Verteilung eines idealisierten inhomogenen Partikelensembles bestehend aus 1000 x 10 nm, 100 x 100 nm und 10 x 1000 nm Kolloiden.

Anhand Abbildung 21 lassen sich gut die Unterschiede beider Messmethoden erkennen. Da die 10 nm großen Partikel anteilmäßig häufiger vorkommen, werden diese auch mittels des Systems, welches die Streuzentren der einzelnen Partikel betrachtet (BMNS-Systeme) am

häufigsten detektiert. Die Gewichtung liegt hierbei deshalb stark auf der Fraktion der kleineren Partikel. Die DLS hingegen betrachtet das komplette Ensemble. Hier streuen die größeren Partikel wesentlich stärker als die kleineren; dadurch werden fast ausschließlich die wenigen großen Partikel detektiert.

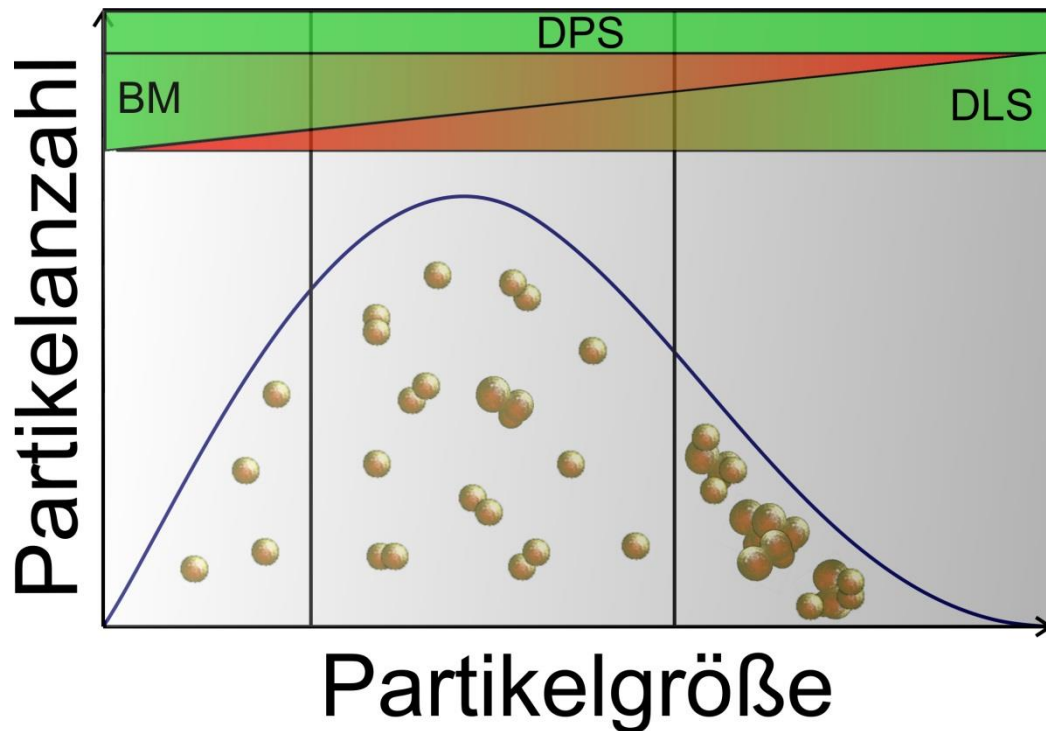


Abbildung 22: Effizienzbereiche der einzelnen Messmethoden bei der Vermessung einer inhomogenen und agglomerierten Partikellösung.

Um das Vorkommen und das Verhalten von Nanopartikeln in aquatischen Systemen genau zu charakterisieren, ist es unabdingbar, die reale Verteilungsbreite der vorhandenen kolloidalen Partikelsuspension zu erfassen.

Die Kombination der beiden Apparaturen, welche Dynamic-Particle-Sizer (DPS) benannt wurde, ermöglicht es, die Verteilung mit erhöhter Präzision zu bestimmen. So können Partikelgrößen sowie deren Oberfläche und Anzahl genau erfasst werden. Durch diese wesentlich präzisere Bestimmung der Oberfläche von kolloidalen Systemen kann zukünftig auch das Verständnis nanopartikulärer Wechselwirkungen mit biologischen Komponenten wesentlich verbessert werden.

4.1. Nanopartikel-Synthesen

Industriell hergestellte Nanopartikel besitzen meistens unbekannte Stabilisierungszusätze sowie stark von den Herstellerangaben abweichende Verteilungsbreiten. Da die genaue Charakterisierung von Modell-Nanopartikeln unabdingbar ist, wurden für den größten Teil der Validierungsmessungen und der durchgeführten Experimente selbst synthetisierte Nanopartikel verwendet. Für die meisten Experimente wurden exemplarisch ladungsstabilisierte Silbernanopartikel gewählt, da diese aufgrund ihrer Zytotoxizität eine hohe biologische Relevanz besitzen^(42,52,185) und zum anderen bereits in vielen alltäglichen Produkten wie Zahnpasta, Funktionswäsche, Reinigungsmittel etc.^(17,24) angewandt werden.

4.1.1. Citrat-stabilisierte Silbernanopartikel - Lee-Meisel-Verfahren

Nach Lee-Meisel⁽⁶⁹⁾ synthetisierte Nanopartikel besitzen eine hohe Stabilität. Bei kühler Lagerung (3-4 °C) behalten sie über mehrere Wochen ihre ursprüngliche Verteilungsbreite. Zudem lassen sich citrat-stabilisierte Silbernanopartikel äußerst reproduzierbar und mit schmalen Verteilungsbreiten herstellen. Eine HR-TEM-Aufnahme dieser citrat-stabilisierter Silbernanopartikel nach Lee-Meisel ist in der folgenden Abbildung dargestellt. Der hydrodynamische Durchmesser kann anhand der Synthesetemperatur variiert werden, wobei höhere Temperaturen zu kleineren Partikeldurchmessern führen.

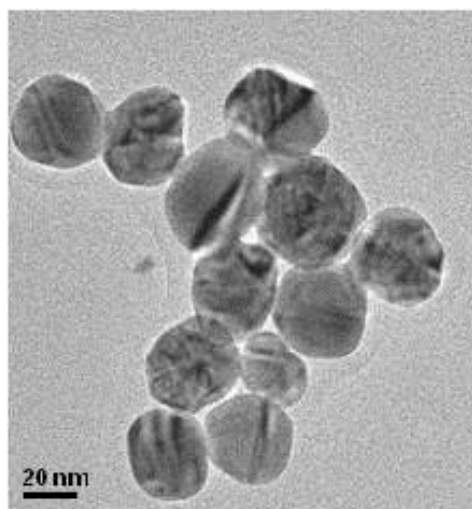


Abbildung 23: Hochauflöste Transmissionselektronenmikroskopie-Aufnahme des synthetisierten citrat-stabilisierten Lee-Meisel Kolloids⁽⁴³⁾.

Verwendete Chemikalien

Tri-Natriumcitrat-Dihydrat (Applichem GmbH; reinst), Silbernitrat (Carl Roth GmbH; p.a.), Stickstoff (Air Liquide; 5.0), Entionisiertes-Wasser (Millipore)

Synthese der Silbernanopartikel

Um mögliche ungewünschte Oxidationsvorgänge während der Synthese zu vermeiden, wird die komplette Partikelsynthese unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Hierzu wird ein 100 mL Dreihalskolben mit einem Thermometer und einer Rückflusskühlung eingesetzt. In dem Dreihalskolben werden 90,9 mL einer Silbernitratlösung ($c = 0,001 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) vorgelegt und solange erhitzt, bis die Temperatur im Kolben konstant $91 \text{ }^{\circ}\text{C}$ beträgt. Anschließend werden schnell 9,1 mL einer Tri-Natriumcitratlösung ($c = 0,04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) hinzugegeben und das Gemisch für circa 9 Minuten unter ständiger Durchmischung bei gleichbleibender Temperatur zur Reduktion stehen gelassen. Die zunächst farblose Lösung färbt sich bei dem Reaktionsvorgang zunächst leicht gelblich bis sie letztendlich einen goldgelben Farbton erhält. Anschließend wird der Kolben sofort aus der Heizquelle entfernt und in ein Eisbad gegeben. Der stöchiometrische Überschuss des verwendeten Tri-Natriumcitrats ist nötig, um das komplette Silbernitrat zu elementarem Silber zu reduzieren und um die Partikel zu stabilisieren. Dieses Verfahren resultiert in einer äußerst monodispersen Partikelverteilung, wobei der hydrodynamische Durchmesser 45 - 50 nm beträgt.

4.1.2. Citrat-stabilisierte Silbernanopartikel - Natriumborhydrid-Verfahren

Bei dieser Synthese von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln nach C. Damm⁽⁸¹⁾ handelt es sich um ein sogenanntes „Bottom-Up“-Verfahren (siehe Kapitel 3.1.). Beginnend mit den sogenannten „Seeds“ wird anschließend eine definierte Menge Silber durch Reduktion mit Ascorbinsäure auf der kolloidalen Oberfläche koagulierte.

Die Vorteile dieser Synthese sind der relativ geringe Material- und Zeitaufwand. Ebenso lassen sich die Nanopartikel in Größen zwischen 12 – 1000 nm reproduzierbar synthetisieren. Der Nachteil der so hergestellten citrat-stabilisierten Silbernanopartikel ist die mit steigender Kolloidgröße sinkende Stabilität der Nanopartikel. Die so hergestellten Silbernanopartikel sind maximal über einen Zeitraum von drei Tagen stabil.

Die Synthese der citrat-stabilisierten Partikel nach dem Natriumborhydrid-Verfahren wird unter Kühlung durchgeführt. Die verwendeten Lösungen besitzen dabei eine Temperatur von 3 - 4 °C.

Verwendete Chemikalien

Tri-Natriumcitrat-Dihydrat (Applichem GmbH; reinst.), Silbernitrat (Carl Roth GmbH; p.a.), L(+)-Ascorbinsäure (Applichem GmbH; Lebensmittelqualität), Natriumborhydrid (Sigma-Aldrich®; purum p.a.), Entionisiertes-Wasser (Millipore)

Synthese der „Seeds“

Für die Herstellung der Seeds werden 8,9 mL de-ionisiertes und gereinigtes Millipore-Wasser in einem Schnappdeckelglas (Rotilabo®-Schnappdeckelfläschen ND22; Carl Roth GmbH) vorgelegt. Anschließend werden 0,25 mL einer Silbernitratlösung ($c = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) und 0,25 mL einer Tri-Natriumcitratlösung ($c = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) unter ständiger Durchmischung hinzugegeben. Danach werden schnell 0,3 mL einer frisch hergestellten Natriumborhydridlösung ($c = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) ebenfalls unter starker Durchmischung beigegeben. Während des Reduktionsvorgangs färbt sich die Lösung zunächst leicht gelblich, dann wird sie goldgelb. Die so hergestellten „Seeds“ werden für circa 12 - 16 Stunden zum Ausreifen bei einer Temperatur von 3-4 °C gelagert, wobei sie eine dunkelgrüne Färbung erhalten. Sie besitzen eine schmale Verteilung mit einem gemittelten hydrodynamischen Durchmesser von $12 \pm 1 \text{ nm}$.

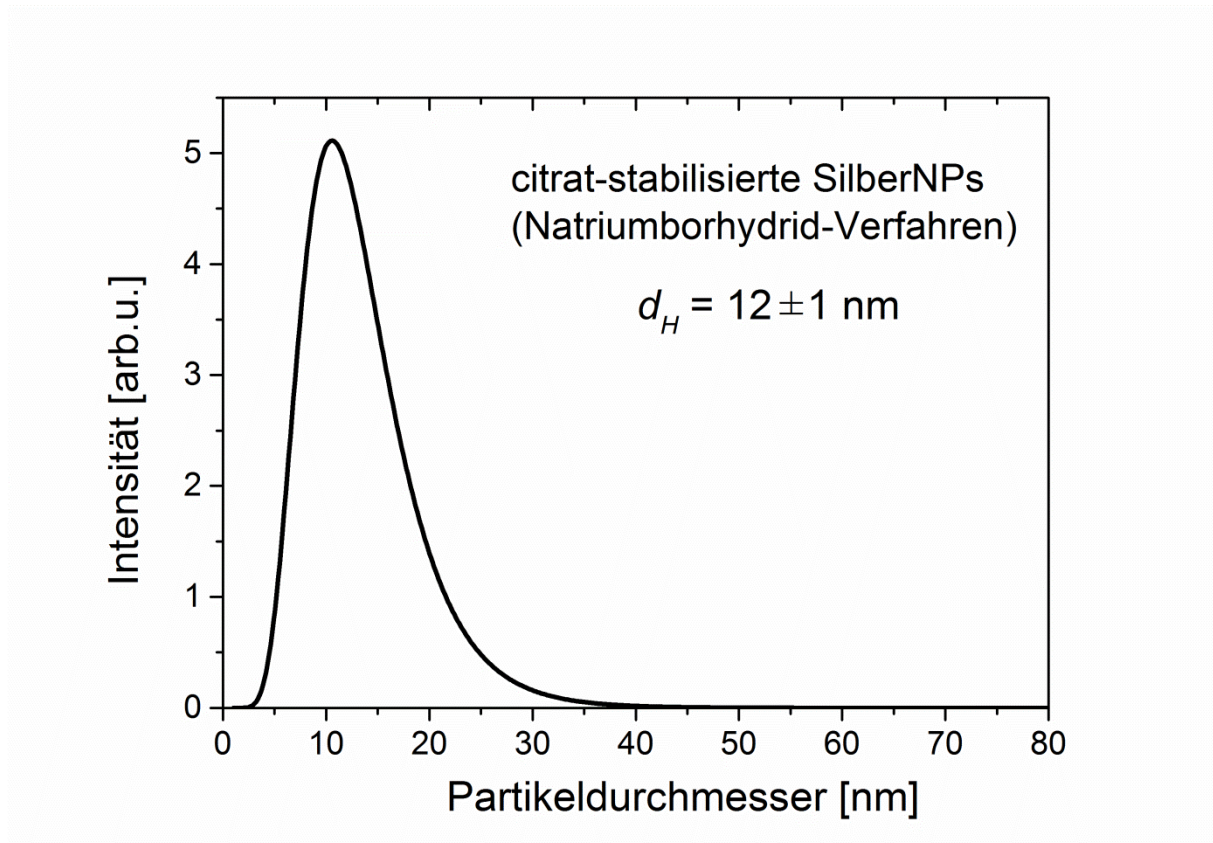


Abbildung 24: Mit dem entwickelten DLS-System gemessenes Histogramm der synthetisierten citrat-stabilisierten-Silbernanopartikel-Seeds ($d_H = 12 \pm 1$ nm).

Variation der Nanopartikelgrößen - „Bottom-Up“-Verfahren

Die Synthese der unterschiedlichen Silbernanopartikelgrößen wurde ebenfalls unter Eiskühlung bei einer durchschnittlichen Temperatur von 3-4 °C durchgeführt. Hierzu wird eine definierte Menge „Seeds“ zu einer konstanten Menge Silbernitrat gegeben. Als schwaches Reduktionsmittel wird Ascorbinsäure verwendet. Dazu werden 5 mL einer $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tri-Natriumcitratlösung in einem Schnappdeckelglas (Carl Roth GmbH; Rotilabo®-Schnappdeckelfläschen ND22) vorgelegt. Im Anschluss werden 0,125 mL Silbernitratlösung ($0,01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) zu der zuvor präparierten Tri-Natriumcitratlösung unter ständiger Durchmischung hinzugegeben. Abschließend werden sehr schnell 0,25 mL einer $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Ascorbinsäurelösung und die benötigte Menge „Seeds“ hinzugefügt. Die reifenden Partikel werden für circa 2 - 3 Stunden bei 3 - 4 °C gelagert.

Die Größenvariation anhand unterschiedlicher Zugaben von „Seeds“ sowie die resultierenden Lösungsfärbungen sind in der folgenden Abbildung dargestellt:

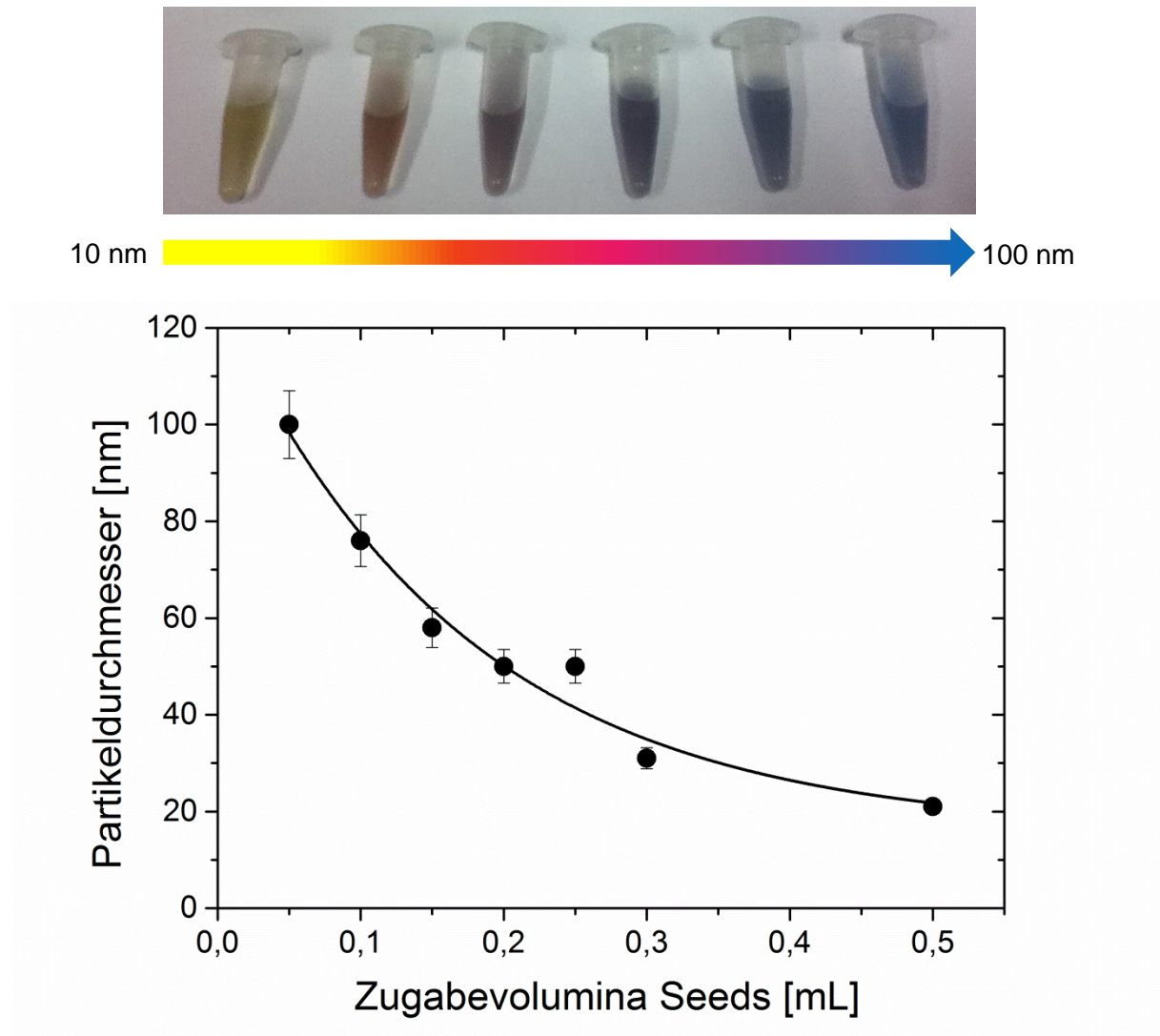


Abbildung 25: Größenabhängige Färbung der synthetisierten citrat-stabilisierten Silbernanopartikel nach der Natriumborhydrid-Methode (oben). Resultierende Partikelgrößen durch Zugabe unterschiedlicher Volumina an synthetisierten „Seed“-Partikeln (unten).

4.2. Brownian-Motion-Nanoparticle-Sizer (BMNS)

Die Entwicklung des Brownian-Motion-Nanoparticle-Sizers (BMNS) begann während meiner Diplomarbeit. In dem folgenden Kapitel werden deshalb der Aufbau und die Software des BMNS zusammenfassend erläutert.

4.2.1. Apparativer Aufbau

Der Aufbau des BMNS besteht prinzipiell aus einem handelsüblichen Dunkelfeldmikroskop (Müller-Germany; MTX-3000, Objektiv: 40x), welches mit einer CCD-Kamera (The Imaging Source; 640x480 Pixel, 30 fps) ausgestattet ist.

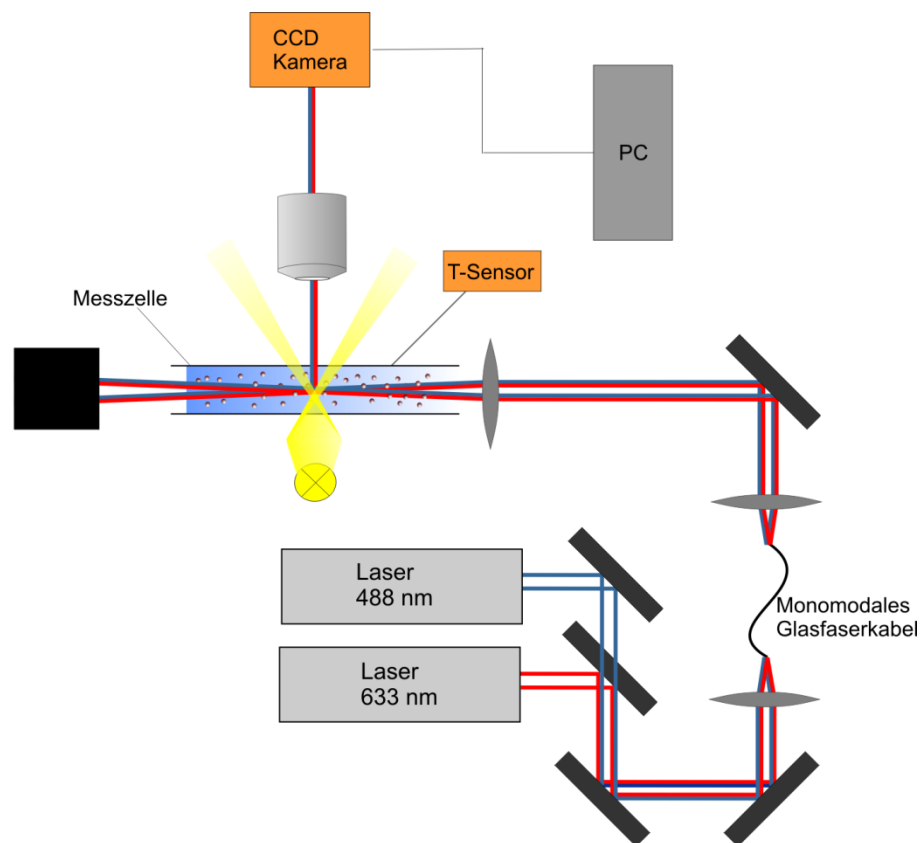


Abbildung 26: Schematischer Aufbau des Brownian-Motion-Nanoparticle-Sizers⁽¹⁸⁶⁾.

Der BMNS detektiert thermische Trajektionspfade einzelner nanopartikulärer Streuzentren und nutzt diese anschließend zur Bestimmung der hydrodynamischen Radien der einzelnen

detektierten Partikel. Um den gemittelten hydrodynamischen Durchmesser des Partikelensembles zu evaluieren, werden die so ermittelten Radien in einem Histogramm aufgetragen und mit einer logarithmischen Normalverteilung angepasst.

Das an den Partikeln gestreute monochromatische Licht kann durch zwei unterschiedliche Laser erzeugt werden. Hauptsächlich wurde ein Helium-Neon-Laser der Wellenlänge 633 nm (Uniphase; Modell 1135P) verwendet. Später im Verlauf der Dissertation wurde als zusätzliche zweite Laserlichtquelle ein Argon-Ionen-Laser mit einer Wellenlänge von 488 nm (Coherent; Innova 90 Plus) installiert. Nanopartikel besitzen bedingt durch ihr Material, ihre Form und ihre Größe unterschiedliche Absorptionsspektren. Der Einsatz unterschiedlicher Wellenlängen ermöglicht es, unterschiedliche partikuläre Spezies erfolgreich zu detektieren.

Die zur Messung der vorliegenden Partikelsuspension geeignetere Laserwellenlänge wird zunächst durch Einstellung eines kippbaren Spiegels (Thorlabs; FM90/M) ausgewählt und durch einen monomodalen Glasfaserleiter (Thorlabs; P1-460A-FC) geführt. Dieser Glasfaserleiter ermöglicht es, den Laserstrahl gezielt über eine längere Strecke zu leiten. Zudem erhöht er die Stabilität des austretenden Laserstrahls und minimiert unerwünschte sphärische Aberrationen. Hinter dem Glasfaserleiter befindet sich ein Kollimator (Thorlabs; F220FC-A), welcher den Laserstrahl parallel auf einen schwingungsgedämpften Lochtisch der Firma Newport leitet. Mit Hilfe einer Linse (Thorlabs; $f = 50$ mm) wird der Laserstrahl in die Messzelle, bestehend aus zwei übereinandergeschichteten Objektträgern (Engelbrecht; $\varnothing = 30$ mm), fokussiert. Zwischen diesen Objektträgern befindet sich die zu untersuchende Partikelsuspension. Hinter der Messzelle befindet sich ein „Beam-Block“ (Thorlabs; LB1), welcher den austretenden Laserstrahl blockiert ohne ihn zu reflektieren. Das Laserlicht wird nun an den, im Fokus des Lasers befindlichen, Partikeln gestreut. Das so erzeugte Streulicht wird dann über ein Objektiv (Olympus; MPlan N 50x, NA = 0,75) auf den Chip der CCD-Kamera (The Imaging Source; 640x480 Pixel, 30 fps) geworfen. Diese gibt anschließend durch Aufzeichnen eines avi-Files die Trajektionspfade der einzelnen Partikel an den Messrechner weiter. Die hydrodynamischen Radien der einzelnen Partikel werden dann anhand einer entwickelten Lab-View Software ermittelt.

4.2.2. Datenerfassung

Die Bestimmung der hydrodynamischen Radien der einzelnen detektierten Partikel wird mit einer Lab-View Software durchgeführt. Ein Teil dieser Software basiert auf der frei erhältlichen Software „St. Andrew Tracker“⁽¹⁸⁷⁾. Diese Software wurde weitestgehend überarbeitet indem einige Teile komplett neu konzipiert wurden, so dass sie zur Größenbestimmung hydrodynamischer Radien anhand der Analyse der Brown'schen Molekularbewegung verwendet werden kann. Zudem wurde eine Automatisierungsstruktur erstellt, welche eine selbständige und periodische Aufnahme und Auswertung der Messdaten ermöglicht. In der folgenden Abbildung ist ein vollständiger Programmablauf schematisch dargestellt.

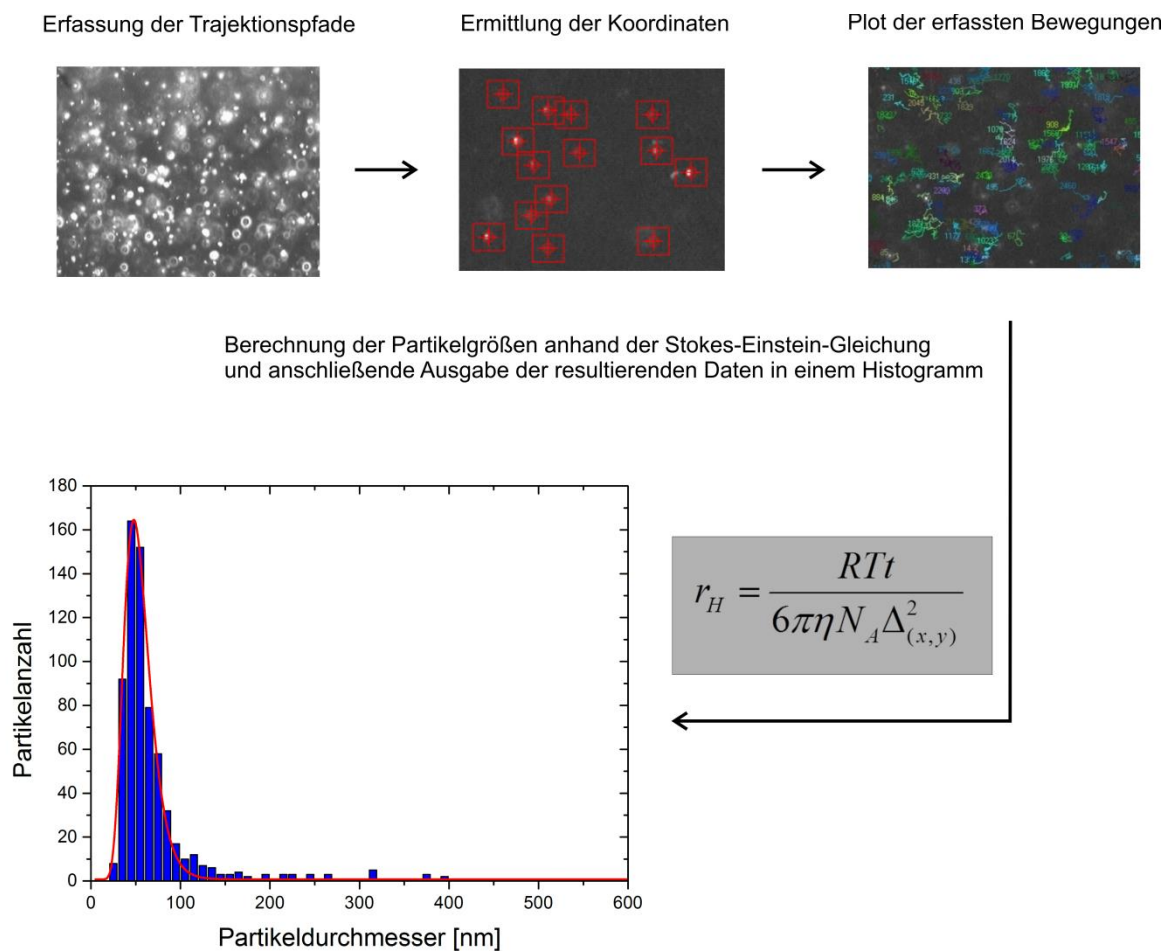


Abbildung 27: Schematische Darstellung eines vollständigen LabView-Programmablaufs des BMNS-Systems.

Zunächst wird der Software eine sogenannte „Region of Interest“ (ROI) vorgegeben. Diese ROI beinhaltet ein für das vorliegende avi-File typisches partikuläres Streuzentrum. Die

Software ermittelt dann anhand dieser ROI die Positionen jedes einzelnen Partikels. Dies wird anhand einer vergleichenden Analyse der Graustufenwerte der einzelnen Pixel für jedes einzelne Frame bewerkstelligt. Der Vorgang wird nun für jedes einzelne Frame wiederholt, um so die Trajektionspfade jedes einzelnen Partikels zu erhalten. Des Weiteren lassen sich folgende Optionen innerhalb der Software individuell anpassen: „Drift-Distanz“, „minimum consecutive counts“, „lost forever threshold“ sowie die Empfindlichkeit der Graustufenwerterkennung.

Die Einstellung der „Drift-Distanz“ bewirkt, dass die Software zusammenhängende Trajektionspfade eines einzelnen Partikels erkennt, in dem nach demselben Streuzentrum innerhalb der angegebenen Pixel gesucht wird. Die Einstellung der „minimum consecutive counts“ dient dazu, dass ein Partikel mindestens über eine bestimmte Anzahl Frames beobachtet werden muss, um in die Datenauswertung aufgenommen zu werden. Dies minimiert Fehler, die durch Partikel, welche die Fokusebene zu schnell verlassen, erzeugt werden. Außerdem werden mit dieser Option Artefakte, die bedingt durch diffuse Streuung entstehen können aus der anschließenden Auswertung ausgeschlossen. Die Konfiguration des sogenannten „lost forever thresholds“ definiert den Bereich, in dem nach Partikeln gesucht wird, die kurzzeitig die Fokusebene verlassen haben. Die Einstellung der Graustufenwerterkennung wird letztendlich anhand der vorliegenden Videoqualität vorgenommen. Bilden die Partikel einen starken Kontrast zum dunklen Hintergrund, kann dieser Wert hoch eingestellt werden. Bei einem niedrigen Kontrastverhältnis des vorliegenden Videos sollte dieser Wert niedriger gewählt werden. Dies kann auch bei geringerer Videoqualität zu einer höheren Qualität der ermittelten Partikelgrößenverteilungen führen.

Nachdem die Software die Koordinaten für jedes einzelne Partikel in jedem einzelnen Frame bestimmt und aufgezeichnet hat, werden die Berechnungen der einzelnen hydrodynamischen Radien mit einer weiteren selbst entwickelten Software⁽¹¹⁸⁾ durchgeführt. Diese Software berechnet aus den zuvor ermittelten Koordinaten mittlere Verschiebungsquadrate, um dann anschließend die hydrodynamischen Radien der einzelnen Partikel anhand der Stokes-Einstein-Gleichung (3.3.15) zu berechnen. Abschließend werden die ermittelten Partikelgrößen in einem Histogramm wiedergegeben, um anschließend den gemittelten hydrodynamischen Durchmesser durch Anpassung einer logarithmischen Normalverteilung zu ermitteln.

Neben den festgelegten Konstanten der Stokes-Einstein-Gleichung, nämlich der Avogadrozahl und der allgemeine Gaskonstante, werden die Variablen Temperatur und

Viskosität auf dem Frontpanel angegeben. Auch der Kalibrationsfaktor, welcher der Konvertierung von Pixeln in metrische Maßeinheiten dient, und die Geschwindigkeit der CCD-Kamera (in Bildern pro Sekunde), welche die benötigte Zeit der Partikel zum Zurücklegen einer Strecke zwischen den einzelnen Frames determiniert, werden vor jeder Auswertung parametrisiert. Zusätzlich werden die an den Wandungen vorhandenen Scherkräfte anhand einer Iteration nach Nordlund^(188,189) berechnet und in die Auswertung einbezogen. Die Flussdiagramme der BMNS-Software befinden sich im Anhang dieser Arbeit.

4.3. Apparatur zur Messung der dynamischen Lichtstreuung (DLS)

Nach der kompletten Überarbeitung des BMNS-Systems, wurde zunächst der zweite Teil der Kombinationsapparatur, nämlich das DLS-System, entwickelt.

4.3.1. Apparativer Aufbau

Die Apparatur zur Bestimmung der dynamischen Lichtstreuung wurde komplett neu konzipiert und konstruiert. Zudem wurde eine neue Software entwickelt, die es ermöglicht, aus den gemessenen Korrelationsfunktionen Partikelgrößenverteilungen zu ermitteln. In diesem Abschnitt wird zunächst schematisch auf den Aufbau der DLS-Apparatur eingegangen, um dann anschließend detaillierter auf die einzelnen Komponenten einzugehen.

Die Apparatur zur Messung der dynamischen Lichtstreuung besteht im Wesentlichen aus einer Laserlichtquelle, welche zunächst mittels eines Teleskops, bestehend aus zwei Linsen (25,4 mm / 100 mm), aufgeweitet wird. Als Laserquelle wird ein dioden-gepumpter Feststofflaser (Polytec; Gem, Nd:YAG) mit einer Wellenlänge von 532 nm eingesetzt. Dieser Laser ist weniger wartungsintensiv und energiesparender als der Ar^+ -Laser.

Die zweite monochromatisch emittierende Quelle bildet hierbei wiederum ein Helium-Neon-Laser (Uniphase; Modell 1135P) mit einer Wellenlänge von 633 nm. Die Verwendung mehrerer Laserwellenlängen gewährleistet die Möglichkeit, ein breiteres Partikelspektrum zu erfassen.

Der Aufbau des entwickelten Systems ist in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt:

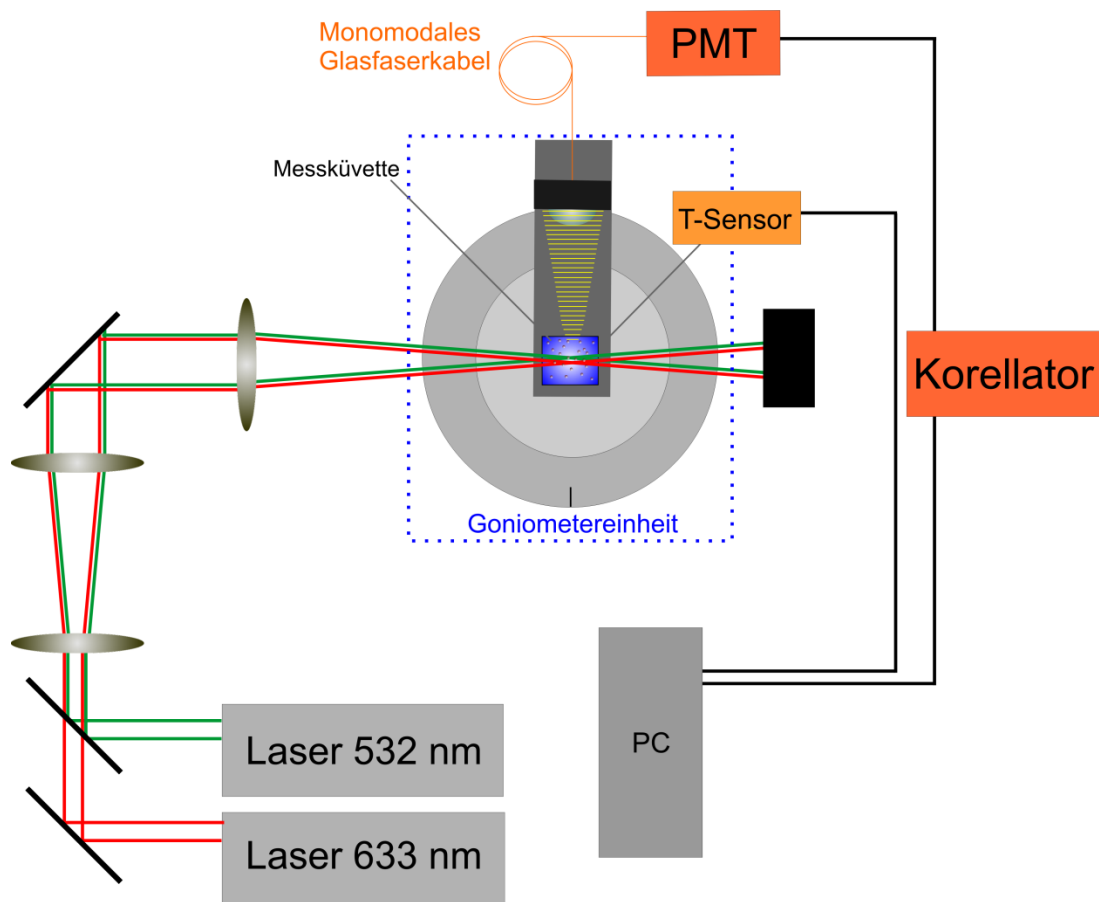


Abbildung 28: Schematischer Aufbau der entwickelten DLS-Apparatur.

Das für die zu messende Partikelsuspension geeignetere Laserlicht kann hier wiederum durch einen Klappspiegel (Thorlabs; FM90/M) gewählt werden. Nach dem Passieren des Teleskops wird das nun aufgeweitete Laserlicht durch eine weitere Linse ($f = 200 \text{ mm}$) und eine Irisblende geführt. Die Linse fokussiert das Laserlicht in die auf einer Goniometereinheit befindliche Messküvette. Die Irisblende eliminiert mögliche vorhandene sphärische Aberrationen und die Goniometereinheit ermöglicht es, Streulicht aus unterschiedlichen Winkeln zu detektieren. Da unterschiedliche Partikelformen und Materialien auch unterschiedliche Streueigenschaften besitzen, könnten zukünftig über winkelabhängige Messungen Daten über die Zusammensetzung der vorliegenden Partikelsuspension erhalten werden. Hinter der Messküvette befindet sich ein sogenannter „Beam-Block“ (Thorlabs; LB1), welcher den austretenden Primärstrahl blockiert und unerwünschte Reflektionen vermeidet.

Innerhalb der Messküvette trifft der fokussierte Laserstrahl auf die kolloidale Partikelsuspension. Das so entstehende Streulicht wird mittels eines Kollimators (Thorlabs; F220FC-A) auf ein Glasfaserkabel fokussiert. Dieser Teil der Apparatur ist sehr wichtig, da das sehr schwache Streulicht ansonsten von Umgebungslicht überstrahlt werden würde. Die Glasfaser ermöglicht es zudem, den kompletten Aufbau in einem lichtdicht verschlossenen Gehäuse zu realisieren und das an den Partikeln gestreute Licht gezielt und gebündelt auf den Photomultiplier (PM) zu bringen. Der Photomultiplier (Perkin und Elmer; MP-943) verstärkt das Signal der einfallenden Photonen und gibt dieses an einen Hardware-Korrelator (Correlator.com Limited; flex99r-12) weiter. Dieser erfasst die Anzahl der eintreffenden Photonen und korreliert das Signal mit einer Sample-Zeit von 12,5 ns. Das korrelierte Signal wird dann an den Messrechner weitergeleitet und von einer ebenfalls selbst entwickelten Lab-View-Software ausgewertet. Abschließend erfolgt die Auftragung der resultierenden Partikelverteilung in einem Histogramm.

4.3.1.1. Der Strahlengang

Da für den größeren Teil der Messungen der Laser mit der Wellenlänge von 532 nm benutzt wurde, werden die folgenden Erläuterungen und Berechnungen beispielhaft mit dieser Wellenlänge durchgeführt.

Der Nd:YAG Festkörperlaser der Firma Polytec wird im cw-Betrieb betrieben und liefert monochromatisches Laserlicht mit einer Wellenlänge von 532 nm und einem Strahldurchmesser von 1 mm. Der Laser wird in der räumlichen TEM₀₀-Mode betrieben. Er besitzt eine durchstimmbare Laserleistung von bis zu 600 mW. Die je nach vorliegender Partikelsuspension benötigte Laserleistung kann individuell mit einer selbst programmierten LabView-Software eingestellt werden. Der Laserstrahl besitzt eine Divergenz von 0,8 mrad und eine Punktstabilität von 38 µrad.

Der emittierte Laserstrahl passiert zunächst ein Teleskop bestehend aus zwei Linsen der Brennweite $f_1 = 25,4$ mm und $f_2 = 100$ mm. Hierdurch ergibt sich mit folgender Formel⁽¹⁹⁰⁻¹⁹²⁾ für die Vergrößerung V_G

$$V_G = \frac{f_1}{f_2} \tag{4.3.1}$$

ein effektiver Strahldurchmesser von 3,94 mm des kollimierten, aus dem Teleskop austretenden Laserstrahls.

Um innerhalb der Messzelle einen Fokuspunkt zu erzeugen, wird der zuvor aufgeweitete Laserstrahl mit einer Linse der Brennweite $f = 200$ mm fokussiert. Der resultierende Fokusbereich ergibt sich nach⁽¹⁹⁰⁻¹⁹²⁾:

$$w_f = \frac{\lambda f}{\pi w_0} \quad (4.3.2)$$

und beträgt 17,20 μm . Das in einem Winkel zwischen 20° und 340° Grad detektierbare Streulicht wird mit einer Kollimatorlinse (Thorlabs; F220FC-A), welche eine numerische Apertur von 0,25 und einer Brennweite von 10,9 mm besitzt, gesammelt und auf ein Glasfaserkabel (Thorlabs; P1-460A-FC) geleitet. Dieses Glasfaserkabel arbeitet optimal in einem Wellenlängenbereich von 450 - 600 nm. Dies macht die Photonenabsorption bei dem Einsatz des Helium-Neon-Lasers nicht optimal. Allerdings können bedingt durch die Wahl dieses Glasfaserleiters trotzdem beide Wellenlängen gut benutzt werden. Der detektierte Strahldurchmesser beträgt nach folgender Näherung⁽¹⁹³⁾

$$d_w = 1,22 \frac{\lambda}{N_A} \quad (4.3.3)$$

2,6 μm . Der Primärstrahl, welcher im Winkel von 0° durch die Messzelle geht, wird abschließend von einer Streufalle absorbiert, um mögliche Reflektionen und andere Streustrahlen zu vermeiden.

4.3.1.2. Goniometereinheit

Die Basis der Goniometereinheit bildet eine Rotationsplattform (Thorlabs; RP01/M). Mit ihrer Hilfe lässt sich der Winkel der Streudetektion präzise einstellen. Auf der Rotationsplattform befindet sich eine Schiene, auf der die Streulichtdetektionseinheit befestigt ist. Diese besteht aus einer Sammellinse, einem SM1-Glasfaseradapter (Thorlabs; AD11F), welcher zur besseren Justierung in einer 6-Achsen-Halterung (Thorlabs; K6X) untergebracht ist, und einem Kollimator (Thorlabs; F220FC-A). Der Kollimator sammelt das eintreffende Streulicht der Probe und fokussiert es auf ein Glasfaserkabel (Thorlabs; P1-460A-FC), welches an den Photomultiplier mittels einer FC/PC Steckverbindung angeschlossen ist.

4.3.1.3. Photomultiplier (PM)

Um das von der kolloidalen Suspension erzeugte Streulicht zu detektieren, wird ein Photomultiplier (PM) der Firma Perkin und Elmer (MP-943) verwendet. Es handelt sich um eine Bialkali-Photokathode mit einer UV-Glasabdeckung, welche eine spektrale Sensitivität im Wellenlängenbereich von 185-650 nm besitzt. Da die so gebaute DLS später in Kombination mit der Apparatur zur Detektion der Brown'schen Molekularbewegung verwendet werden soll, ist hier der Einsatz eines PM unabdingbar. Zwar können bei kleinen Zeiten sogenannte Afterpulses auftreten, jedoch korreliert dieser Bereich mit der Diffusion von sehr kleinen Partikeln oder Molekülen (1-10 nm). Da die BMNS in einem Bereich von 20 - 1500 nm arbeitet, ist dieser Bereich für die Kombinationsapparatur nicht relevant. Die Vermessung von kleinen Partikeln, wie beispielsweise Proteinen, ist zwar möglich, aber bedingt durch die fehlende Cross-Korrelation mit einem größeren Fehler behaftet. Hierfür würde sich der Einsatz einer Avalanche-Photodiode (APD) anbieten, da diese in einem Bereich von 1 bis 10 nm am effektivsten arbeitet. APDs bieten zudem eine zehnmal höhere Quanteneffizienz als PMs. Werden jedoch Bereiche oberhalb von 10 nm erreicht, resultieren die entstehenden Totzeiten einer APD in sehr starken Messungenauigkeiten. Diese können auch durch Anwendung der Methode der Cross-Korrelation nicht eliminiert werden⁽¹⁹⁴⁾.

4.3.2. Datenerfassung

Zu Beginn wird das an den Partikeln gestreute Laserlicht mit dem Photomultiplier (Perkin und Elmer; MP-943) erfasst und an den Hardware-Korrelator (Correlator.com Limited; flex99r-12) weitergegeben. Dieser wertet die gemessenen Streuintensitäten wie im Kapitel 3.3.2. beschrieben aus und gibt abschließend die ermittelte Korrelationsfunktion an die für diese Auswerteroutine entwickelte Lab-View-Software weiter. In der folgenden Abbildung ist das Frontpanel der LabView-Software dargestellt:

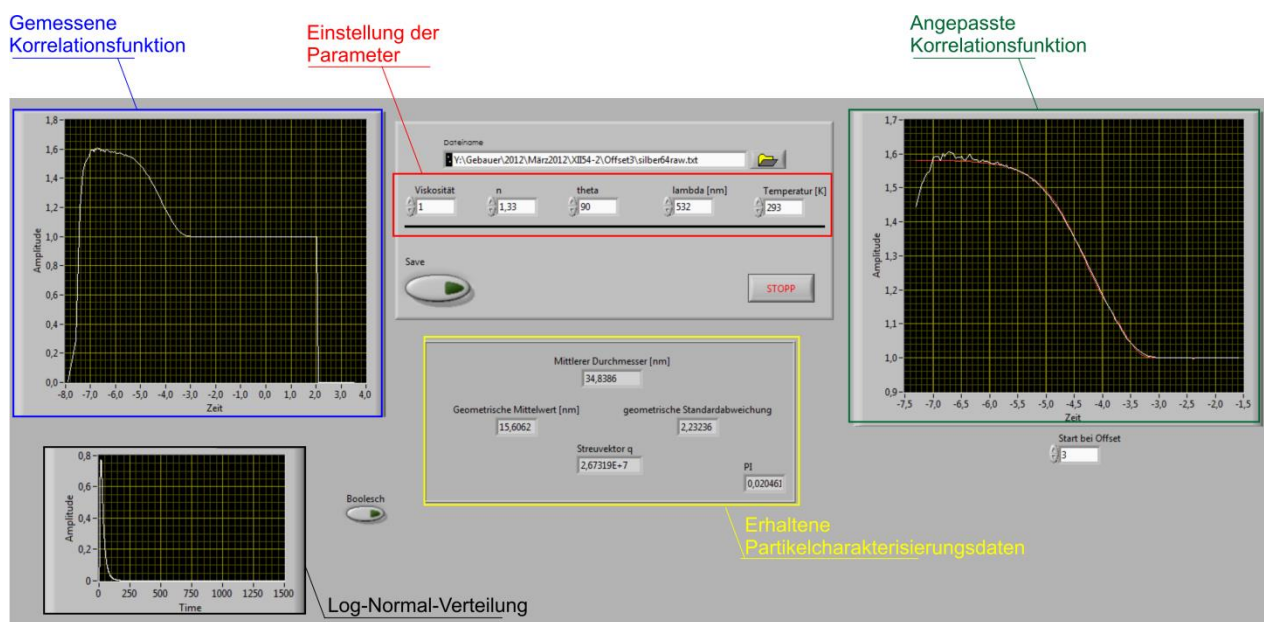


Abbildung 29: Frontpanel der entwickelten LabView-Software des DLS-Systems.

Vor jeder Messung müssen zunächst die messbedingten Parameter, welche in die Gleichungen (3.3.23) und (3.3.30) eingehen, festgelegt werden. Hierzu zählen die Viskosität sowie der Brechungsindex der Probenlösung, der Detektionswinkel, die Wellenlänge des verwendeten Laserlichts und die Probentemperatur in Kelvin. Am oberen linken Bildschirmrand befindet sich die gesamte gemessene Korrelationsfunktion aus der dann ein Bereich, welcher im oberen rechten Bildschirmrand dargestellt ist, zur Anpassung der Funktion (3.3.28) ausgewählt werden kann. Die aus dem Fit erhaltenen Partikelcharakterisierungsdaten, wie der mittlere Partikeldurchmesser, die geometrische Standardabweichung und der geometrische Mittelwert, werden dann in der Mitte des Panels wiedergegeben. Abschließend erstellt das Programm aus den ermittelten Parametern eine

Log-Normal-Verteilung und speichert sämtliche angezeigten Graphen und Parameter zur weiteren Verarbeitung in einer Datei ab. Das Flussdiagramm der DLS-Software befindet sich im Anhang dieser Arbeit.

4.3.3. Validierung des DLS-Systems mit Modellsystemen

Um die Apparatur präzise zu charakterisieren wurden zunächst Korrelationsfunktionen von selbst synthetisierten und gut definierten Nanopartikelsuspensionen sowie von kommerziell erhältlichen Polystyrolpartikeln (Polybead® Polysterene Microspheres, Polysciences Inc.) gemessen. Diese ersten Probemessungen wurden anschließend mit der Open Source Software „Gnuplot 4.6.0“⁽¹⁹⁵⁾ ausgewertet. Es zeigte sich, dass die Apparatur bereits sehr gute Ergebnisse lieferte und dass das gewählte Polydispersitätenmodell die gewonnenen Autokorrelationsfunktionen exakt beschreibt.

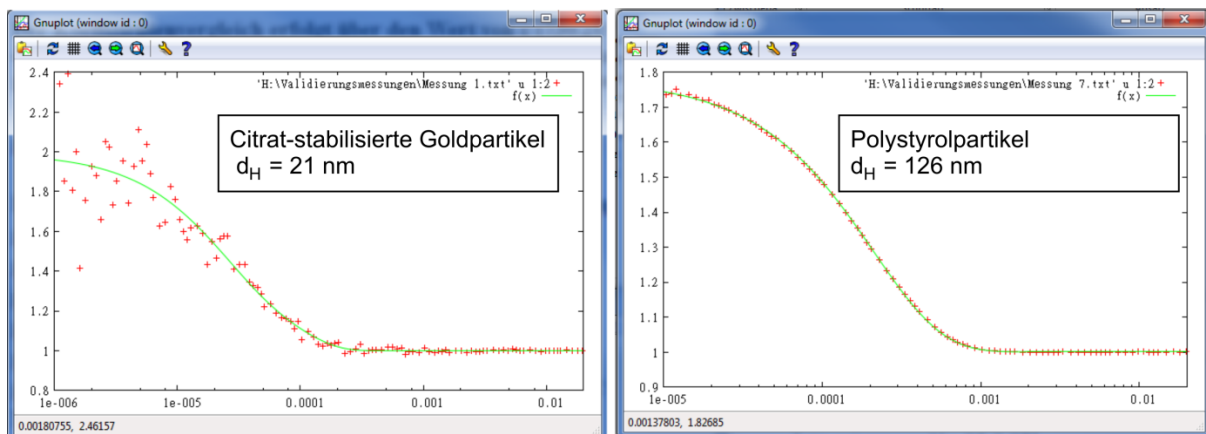


Abbildung 30: Erste Probemessungen mit dem neu entworfenen DLS-System. Die erhalten Korrelationsfunktionen wurden mathematisch mit der Software „Gnuplot 4.6.0“⁽¹⁹⁵⁾ angepasst.

Die kommerziell erworbenen Polystyrolsuspensionen zeigten, dass sich auch ein kleiner Anteil Agglomerate innerhalb der Versuchslösung befand. Somit erschienen die gemessenen Polystyrolpartikel etwas größer, als der vom Hersteller angegebene Durchmesser von 100 nm. Die Goldpartikel zeigten allerdings sehr gute Übereinstimmungen, da der ermittelte gemittelte hydrodynamische Partikeldurchmesser hier, wie bei den vorherigen Synthesen, um die 20 nm betrug⁽¹⁹⁶⁾. Die Achsen in Abbildung 30 besitzen unterschiedliche Skalierungen und es lässt sich erkennen, dass die Korrelationsfunktion der untersuchten Goldsuspension aufgrund ihrer

geringeren Streuung (bei gleichen Messbedingungen) eine größere Varianz der Messwerte aufweist.

Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob eine Erhöhung der Laserleistung bei einer Wellenlänge von 532 nm eine Erhitzung mit einer einhergehenden Beschleunigung der Partikel zur Folge hat. Zudem sollte mit den folgenden Experimenten die untere Grenze der benötigten Laserleistung ermittelt werden, um den optimalen Messbereich des konstruierten DLS-Systems genau zu evaluieren.

In der folgenden Abbildung wurde eine Suspension bestehend aus synthetisierten Lee-Meisel-Kolloiden (Kapitel 4.1.1.) mit unterschiedlichen Laserleistungen unter Einsatz des Nd:YAG Festkörperlasers ($\lambda = 532$ nm) untersucht.

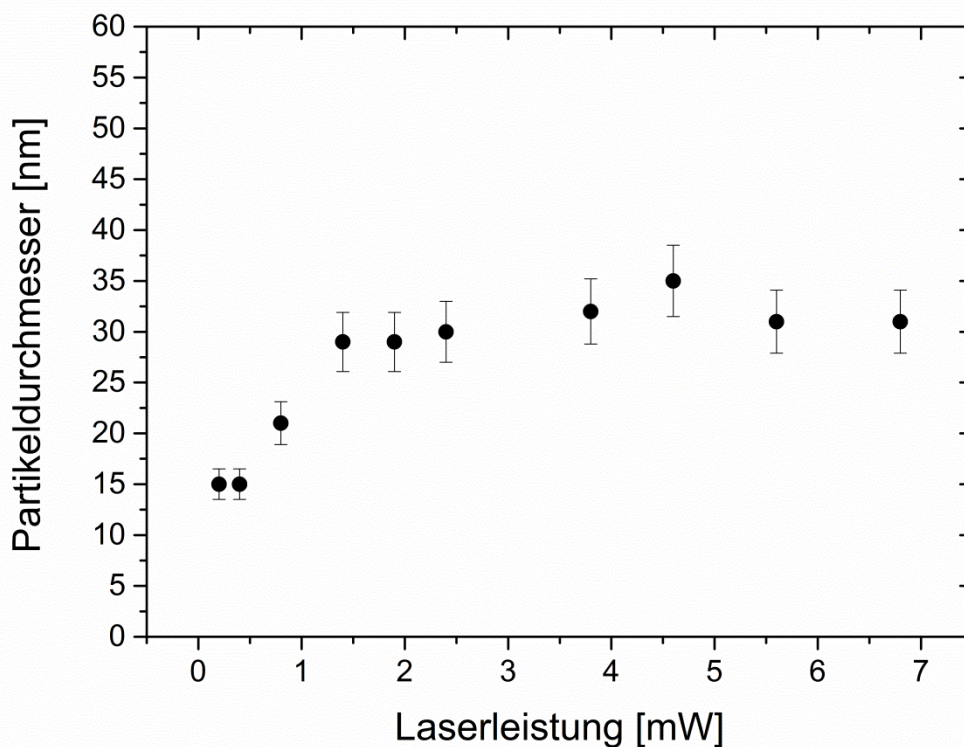


Abbildung 31: Ermittelte Partikeldurchmesser von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln, welche nach dem Lee-Meisel-Verfahren synthetisiert wurden, mit variierender Laserleistung.

Die kolloidale Suspension zeigte keine partielle Erhitzung innerhalb des verwendeten Laserleistungsbereichs. Außerdem ließ sich anhand der Messung erkennen, dass bei geringer Laserleistung die resultierenden hydrodynamischen Durchmesser wesentlich kleiner erscheinen. Bei genauerer Betrachtung der Korrelationsfunktionen zeigte sich, dass sich diese

mit zunehmender Laserleistung, also auch mit einer zunehmenden Zahl von detektierten Photonen, immer mehr dem gewählten Polydispersitäten Modell entsprechen. Bei geringerer Laserleistung hingegen erscheint das Spektrum sehr verrauscht und die gewonnene Korrelationsfunktion lässt sich nur fehlerhaft auswerten, was letztendlich bei einer niedrigen detektierten Photonenzahl zu einem verfälschten Ergebnis führt.

Um sicher zu gehen, dass sich außerdem keine partiellen Erhitzungen bei höheren Laserleistungen zeigen, wurde das Experiment mit einer anderen Charge von Lee-Meisel-Kolloiden wiederholt. Auch hier zeigte sich keine beobachtbare Veränderung des mittleren hydrodynamischen Durchmessers, so dass hier ebenfalls partielle Erhitzungen ausgeschlossen werden können.

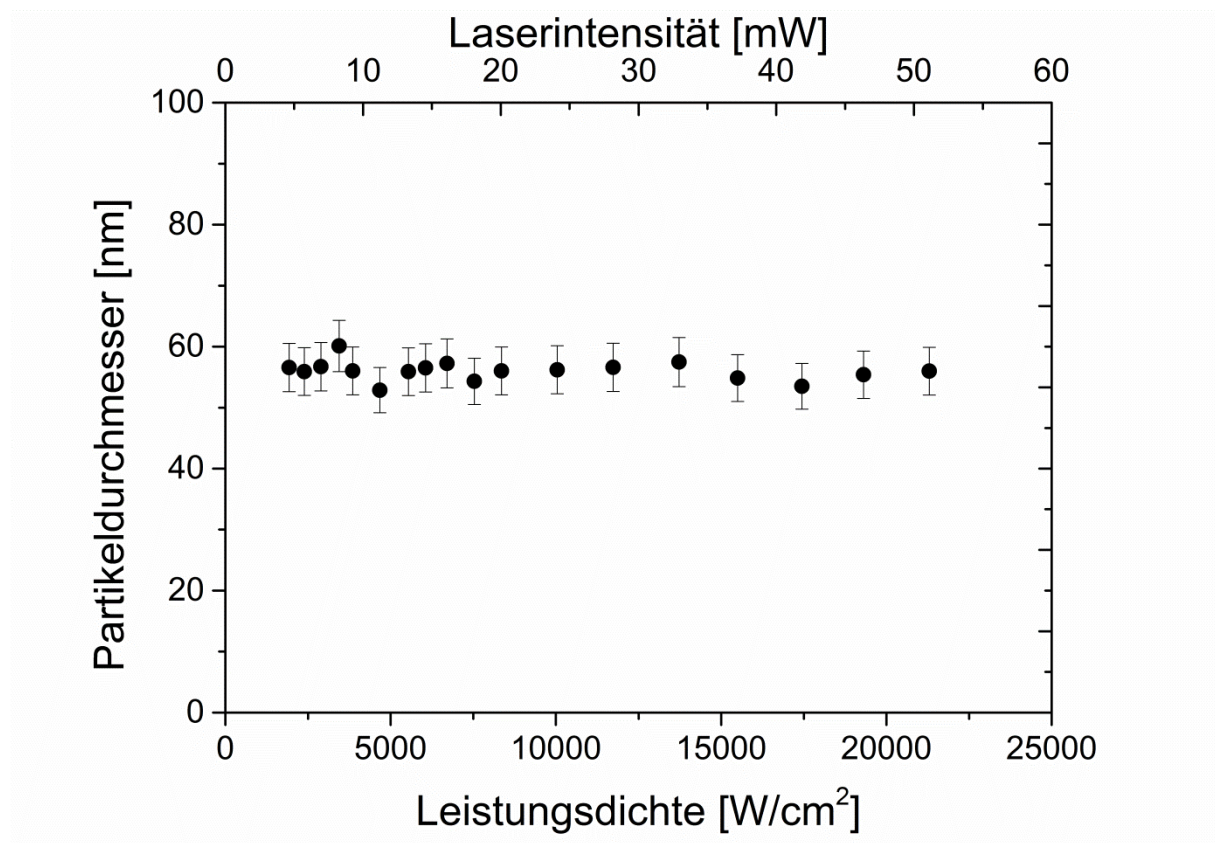


Abbildung 32: Messungen von citrat-stabilisierten Silbrenanopartikeln (Lee-Meisel-Methode) bei verschiedenen Laserleistungsdichten ($\lambda = 532 \text{ nm}$).

4.4. Dynamic-Particle-Sizer (DPS)

Nach dem die wichtigsten Entwicklungen, nämlich die Apparatur zur Messung der Brown'schen Molekularbewegung (BMNS) und die zur Detektion der dynamischen Lichtstreuung (DLS) abgeschlossen waren, konnte damit begonnen werden, eine Apparatur zu entwickeln, welche die Vorteile beider Systeme vereint und deren Nachteile minimiert. Die so neu entstandene Apparatur wurde Dynamic-Particle-Sizer (DPS) benannt. Als Basis für das DPS-System diente das entwickelte DLS-System (Kapitel 4.3.). Das BMNS-System wurde für diese Kombination komplett überarbeitet. Zudem war es nötig eine neue Messzelle zu konstruieren, welche simultane Messungen mit Hilfe eines Mikroskop-Objektivs und eines Photomultipliers ermöglicht.

4.4.1. Apparativer Aufbau

Der Aufbau des entwickelten DPS-Systems ist in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt:

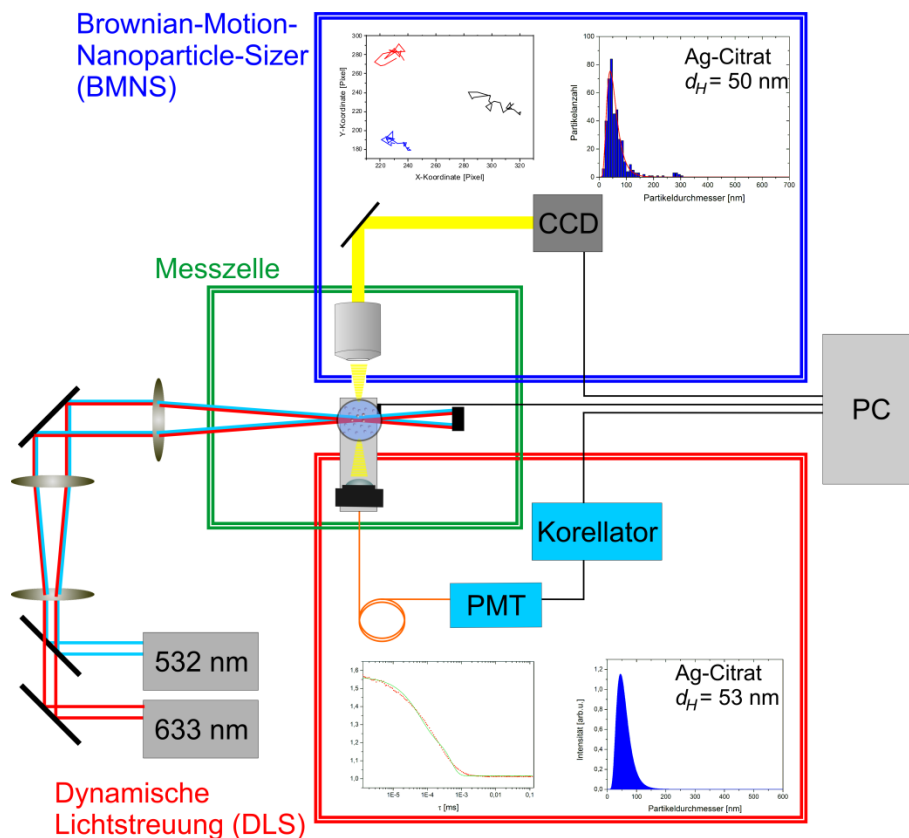


Abbildung 33: Schematische Darstellung des DPS-Aufbaus.

Der Aufbau des DPS-Systems entspricht einer Erweiterung des im Kapitel 4.3. beschriebenen Strahlengangs des DLS-Systems. Aus den zuvor gewonnenen Kenntnissen wurde ein neues BMNS-System entwickelt. Hierzu wurde ein Mikroskoptubus (Askania; KMA1), welcher sich auf einer fahrbaren Schiene (Thorlabs; RLA300/M) befindet, verwendet. Die Verwendung der Schiene ermöglicht eine exakte Positionierung des Systems in vertikaler Richtung, wobei der verwendete Mikroskoptubus eine präzise Positionierung in horizontaler Richtung ermöglicht. Um die Messzelle genau im System platzieren zu können, wurde eine in z-Richtung verstellbare Halterung (Thorlabs; TRT2/M) an einer Universalplatte befestigt (Thorlabs; MB1111A/M). Auf der Universalplatte wird die Messzelle mit der zu untersuchenden kolloidalen Suspension positioniert. Um Streu- und Umgebungslicht zu minimieren, wurde ein schwarzgefärbtes Gehäuse angefertigt. Dieses Gehäuse besitzt an der oberen Seite eine Aussparung für den Mikroskoptubus sowie eine seitliche Klappe zum Auswechseln der Messzelle.

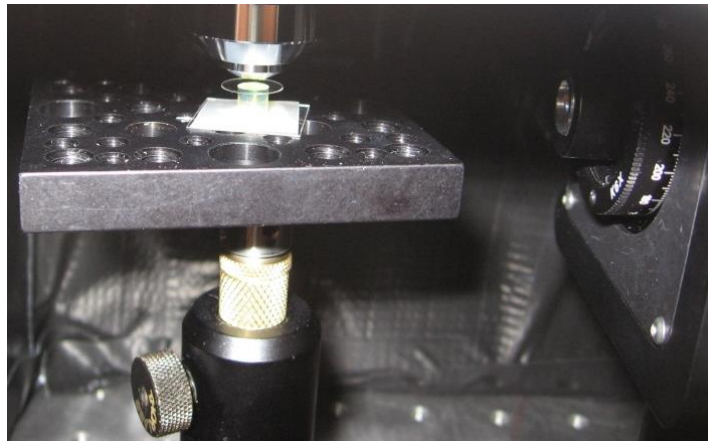


Abbildung 34: Positionierung der Messzelle innerhalb des DPS-Systems.

Eine weitere zu lösende Aufgabe stellte das Anfertigen einer geeigneten Messzelle dar. Diese musste folgende Eigenschaften besitzen:

- Die Messzelle benötigte eine optisch reine Kante, um unerwünschte Laserreflektionen zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Diffusionsgradienten, musste die Messzelle luftdicht abgeschlossen sein.
- Die Messzelle sollte zudem eine runde Wandung besitzen, um zukünftig auch Streulichtdetektionen aus unterschiedlichen Winkeln zu ermöglichen.

Zudem musste der Laserstrahl aufgrund des geringen Arbeitsabstands des Objektivs sehr weit oben durch die Messzelle geführt werden. Er sollte sich aber dennoch so weit unten befinden, dass noch genügend Streulicht auf die Kollimatorlinse der Streulichtdetektion mittels PM fiel. Die nach diesen Kriterien entwickelte und funktionstüchtige Messzelle ist in der folgenden Abbildung dargestellt:

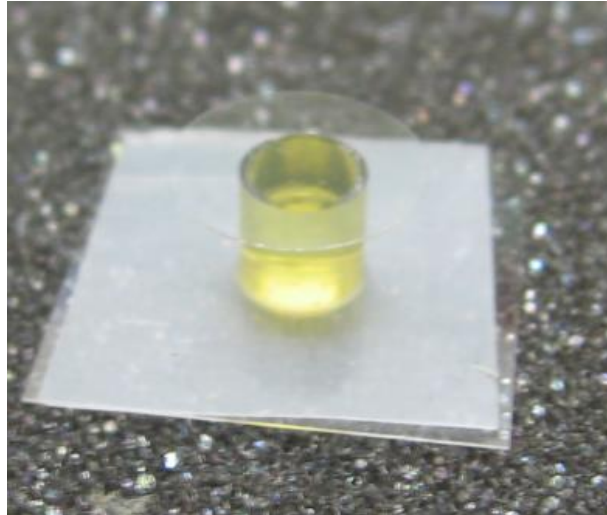


Abbildung 35: Entwickelter Messzellen-Prototyp des DPS-Systems.

Die entwickelte Messzelle besteht im Wesentlichen aus einem 18 mm x 18 mm großen, eckigen Objektträgerboden (Carl-Roth), auf dem sich ein kleiner Glaszylinder mit einer Höhe von 5 mm und einem äußeren Durchmesser von 4,97 mm befindet. Dieser Glaszylinder wurde in der Glasbläserei der Universität Duisburg-Essen hergestellt. Als Ausgangsmaterial diente ein herkömmliches NMR-Röhrchen, welches in 6 mm lange Stücke zerteilt wurde. Anschließend wurde eine Seite des so gewonnenen Zylinders um ca. 1 mm auf die gewünschte Höhe von 5 mm heruntergeschliffen. Dadurch entstand eine glatte und optisch reine Oberkante. Um den Glaszylinder gut abgedichtet auf dem Objektträger zu platzieren, wurde eine dünne Schicht Parafilm auf den Objektträgerboden aufgetragen. Anschließend wurde das Röhrchen mit einer Heißluftpistole erhitzt und vorsichtig in die Parafilmschicht gedrückt. Die fertige Messzelle kann mit einem Probenvolumen von 65,8 μl bis zum oberen Rand befüllt werden. Abschließend wurde ein kleiner Objektträger (Knittel-Gläser; KN10012034, $\varnothing = 10 \text{ mm}$) auf den Flüssigkeitsfilm gelegt. Hierdurch schloss die Messzelle auch auf der oberen Seite, bedingt durch die Oberflächenspannung der Flüssigkeit, dicht ab. Die so präparierte Messzelle kann anschließend mit dem DPS-System untersucht werden.

Nach jeder Messung wurde der Glaszylinder von dem Objektträgerboden entfernt und mit Küvettenreiniger (Hellma Analytics; Hellmanex[®]III) von Verunreinigungen befreit. Abschließend wurden die gereinigten Glaszylinder mehrmals mit Reinstwasser behandelt und konnten dann erneut eingesetzt werden.

4.4.2. Datenerfassung

Die Datenerfassung entspricht einer Kombination aus den in Kapitel 4.2.2 und Kapitel 4.3.2 beschriebenen Programmen. Simultan werden sowohl die Aufnahme der avi-Files als auch die Photonendetektion und Hardwarekorrelation des DLS-Systems gestartet. Anschließend werden diese beiden simultan aufgezeichneten Datensätze ausgewertet. Nachdem die Histogramme aus dem „Partikel-Tracking“ und der Auswertung der Korrelationsfunktion erstellt wurden, können die gemittelten hydrodynamischen Durchmesser der untersuchten Partikelsuspensionen durch Anpassung mit einer Log-Normal-Funktion (Kapitel 3.3.1.3.) ermittelt werden.

4.4.3. Validierung des DPS mit bekannten Modellsystemen

Um die Reproduzierbarkeit einzelner Messungen zu erhöhen, bei denen ein Austausch der Messzelle notwendig ist, wurde ein Messzellenhalter angefertigt. Hierzu wurde ein Kupferdraht ($\varnothing = 0,5 \text{ mm}$) zurechtgebogen und schwarz gefärbt. Anschließend wurde der Kupferdraht auf dem Probenhalter befestigt. Dies ermöglicht eine exakte Positionierung der Messzelle und liefert somit eine erhebliche Erhöhung der Messqualität. Die folgende Abbildung zeigt eine exemplarische Messung von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln, welche anhand der Natriumborhydrid-Methode hergestellt wurden.

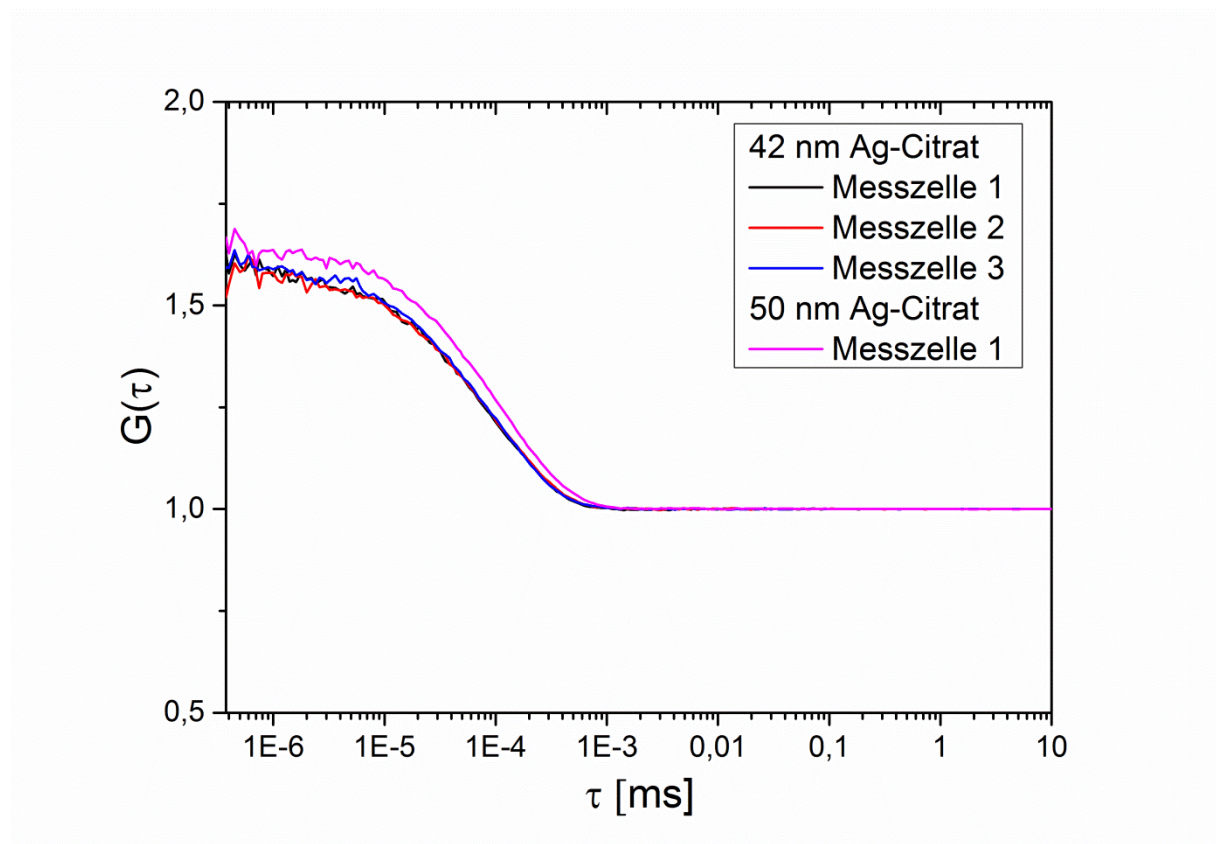


Abbildung 36: Validierung der Messreproduzierbarkeit unter Einsatz des entwickelten Messzellenhalters. Die schwarze, rote und blaue Korrelationsfunktion entspricht einer kolloidalen Suspension von 43 nm citrat-stabilisierten Silberkolloiden (Natriumborhydrid-Methode). Die magentafarbene Korrelationsfunktion zeigt vergleichend den Abfall der Korrelationsfunktion einer Messung von 50 nm citrat-stabilisierten Silberkolloiden (Natriumborhydrid-Methode).

Zunächst wurden Korrelationsfunktionen einer kolloidalen Suspension nach dem Natriumborhydrid-Verfahren (Kapitel 4.1.2.) mit einem gemittelten hydrodynamischen Partikeldurchmesser von $42 \pm 2 \text{ nm}$ in verschiedenen Messzylindern ermittelt. Wie in Abbildung 36 zu erkennen ist, liefert der entwickelte Messzellenhalter eine hohe

Reproduzierbarkeit. Zum besseren Vergleich wurde zusätzlich in Abbildung 36 eine Korrelationsfunktion einer kolloidalen Suspension mit einer Partikelgröße von 50 ± 2 nm, welche ebenfalls nach der Natriumborhydrid-Methode synthetisiert wurde, dargestellt.

4.4.3.1. Validierung des DPS-Systems

Da in den vorangegangenen Experimenten gezeigt wurde, dass sich die Partikel durch den Einsatz des 532 nm Lasersystems nicht merklich aufheizen und bekannt war, dass eine detektierte Photonenzahl von ca. 30000 Photonen·ms⁻¹ ausreicht, um statistisch belastbare Ergebnisse zu bekommen, konnte mit den ersten Validierungsmessungen des DPS-Systems begonnen werden.

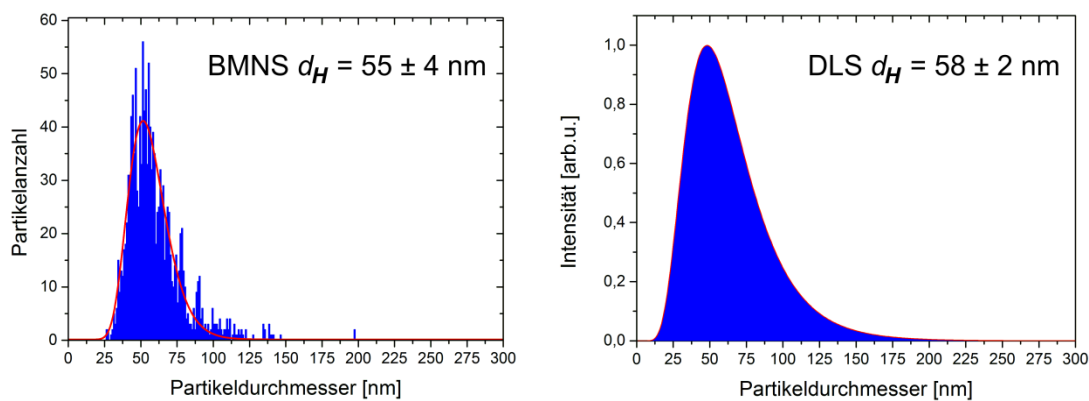


Abbildung 37: Erste simultane BMNS/DLS-Messung einer citrat-stabilisierten Silberkolloidlösung (Lee-Meisel-Methode) im selben Probenvolumen.

Bei dieser simultanen Messung von BMNS und DLS ermittelte das BMNS-System einen gemittelten hydrodynamischen Partikeldurchmesser von 55 ± 4 nm. Mit der DLS-Methode wurde einen Durchmesser von 58 ± 2 nm detektiert. Im nächsten Schritt wurden unterschiedlich konzentrierte kolloidale Suspensionen einer Charge citrat-stabilsierter Nanopartikel vermessen, um zu beobachten, wie stark der Einfluss der Konzentration auf die resultierende Partikelverteilung ist. Messungen von höher konzentrierten kolloidalen Suspensionen können, insbesondere bei der Betrachtung der dynamischen Lichtstreuung, sogenannte multiple Streueffekte aufweisen. Diese entstehen dadurch, dass das an den Partikeln gestreute Licht bedingt durch die hohe Anzahl vorhandener partikulärer Komponenten mehrfach gestreut wird. Hierbei tritt eine Superposition des Streulichts auf.

Die folgende Abbildung zeigt die Ergebnisse dieses Experiments:

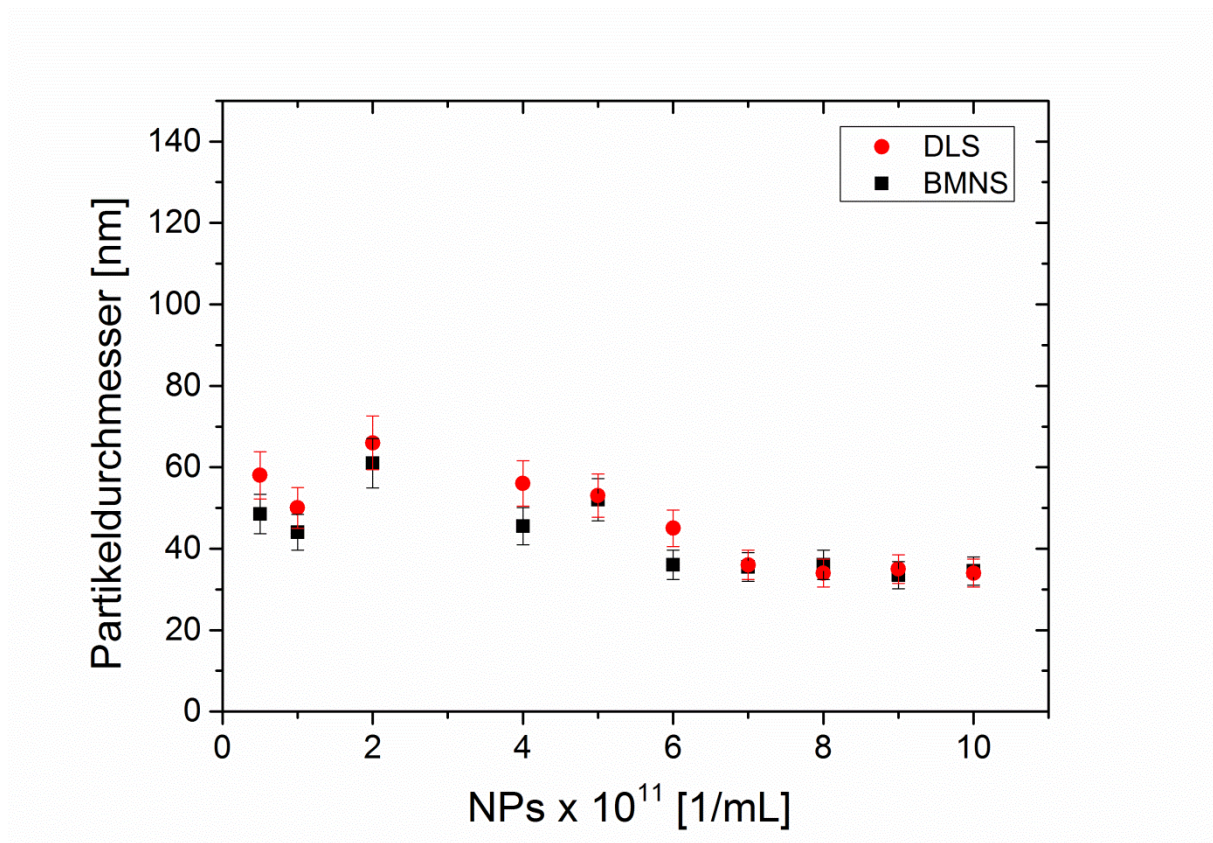


Abbildung 38: Größenabhängigkeit bedingt durch Mehrfachstreuung bei unterschiedlich stark konzentrierten citrat-stabilisierten Silbernanopartikellösungen (Lee-Meisel-Methode) bei einer verwendeten Laserwellenlänge von 532 nm.

Diese Partikelcharge citrat-stabilsierter Silbernanopartikel besaß eine Partikelkonzentration von 10^{12} SilberNPs·mL⁻¹. Die Stammlösung wurde in dieser Versuchsreihe für jede einzelne Messung mit Reinstwasser bis zu einer Partikelkonzentration von 10^{10} SilberNPs·mL⁻¹ verdünnt. Beide Systeme zeigten bei der Betrachtung höher konzentrierter Suspensionen eine Verringerung der ermittelten hydrodynamischen Durchmesser. Dies führte beim Tracking dazu, dass sich mehrere Partikel in der gewählten ROI befinden können. Dadurch ist es möglich, dass die Software den gesuchten Bereich erst weiter entfernt erfolgreich detektiert. Dies geht mit einer Verlängerung der Trajektionspfade und einer scheinbar erhöhten thermischen Eigenbewegung einher. Die DLS hingegen detektierte bei sehr hohen Partikelkonzentrationen multiple Streueffekte. Dieses an mehreren Partikeln gestreute Licht bewirkt ebenfalls die Ermittlung eines kleineren hydrodynamischen Durchmessers bei höher konzentrierten Partikelsuspensionen.

4.5. Modellentwicklung zur quantitativen Partikelanalyse

4.5.1. Quantifizierung polydisperser Partikelsysteme

Um mit dem neu entwickelten Dynamic-Particle-Sizer polydisperse Systeme zu quantifizieren, wurde zunächst ein Experiment durchgeführt, bei dem unterschiedliche Mischungsverhältnisse zweier verschiedener Silbernanopartikelgrößen beobachtet wurden. Die hierbei verwendeten Partikel wurden nach der Natrium-Borhydrid-Methode (Kapitel 4.1.2.) hergestellt.

Ausgehend von den reinen 45 nm Partikeln wurden zunehmend 100 nm Partikel hinzugegeben und mit dem DPS vermessen. Die Gemische repräsentieren hierbei Verhältnisse realer Partikelanzahlen, welche aus der für das „Bottom-Up“-Verfahren verwendeten Anzahl „Seeds“ berechnet wurden.

Die erhaltenen Messwerte sowie die berechneten Ausgleichsgeraden sind in folgender Abbildung dargestellt:

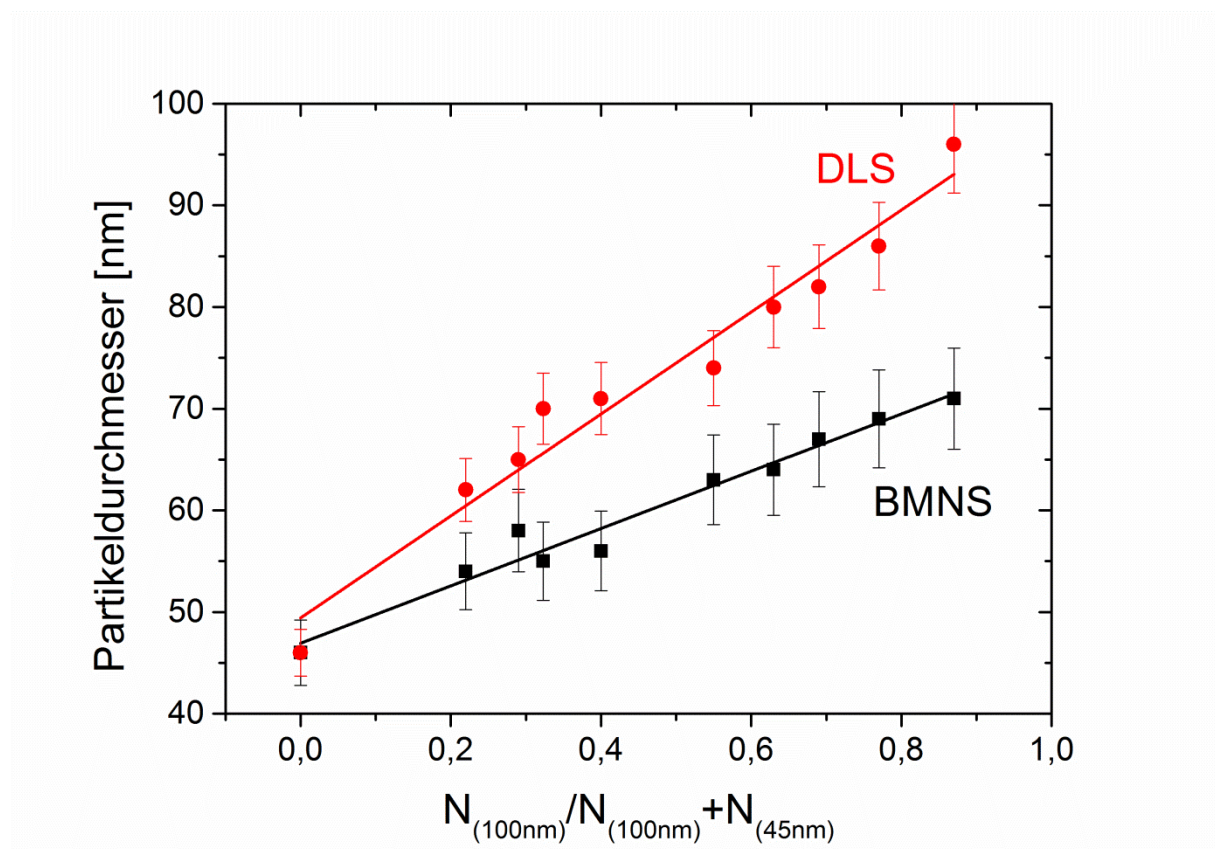


Abbildung 39: DPS-Messung eines variierenden citrat-stabilisierten Silbernanopartikelgemisches (Natriumborhydrid-Methode) bestehend aus Fraktionen von 45 nm und 100 nm Partikeln.

Wie erwartet, zeigt sich, dass die bildgebende Methode (BMNS) die Partikelverteilungen deutlich geringer einschätzt als die auf der Lichtstreuung basierende Methode (DLS). Ebenfalls konnte eine deutliche Zunahme des Partikelgrößenunterschieds von BMNS und DLS beobachtet werden. Dies lässt sich auf die zunehmende Polydispersität der untersuchten Suspension bei steigender Zugabe größerer Nanopartikel zurückführen.

Um das System genau zu charakterisieren, wurden zu den Modellmessungen zusätzliche Berechnungen der Streueigenschaften der vorliegenden Partikelsuspensionen durchgeführt. Für diese Simulation wurde das Freeware-Programm Scatlab 1.2 (Build 111)⁽⁸⁸⁾ herangezogen. Folgende Inputparameter, welche der verwendeten Wellenlänge von 532 nm entsprechen, wurden gewählt:

m_1 (Realer Teil des Brechungsindex des umgebenden Mediums) = Wasser (1,33)⁽⁸⁹⁾

k_1 (Imaginärer Teil des Brechungsindex des umgebenden Mediums) = Wasser (0)⁽⁸⁹⁾

m_2 (Realer Teil des Brechungsindex des Partikelmaterials) = Silber (0,129)⁽⁸⁹⁾

k_2 (Imaginärer Teil des Brechungsindex des Partikelmaterials) = Silber (3,193)⁽⁸⁹⁾

θ (Detektionswinkel des auftreffenden Streulichts) = 90 °

Anhand der in Kapitel 3.2. beschriebenen und auf der Mie-Theorie beruhenden Berechnungen können die Streueigenschaften der verwendeten Partikel genau untersucht werden.

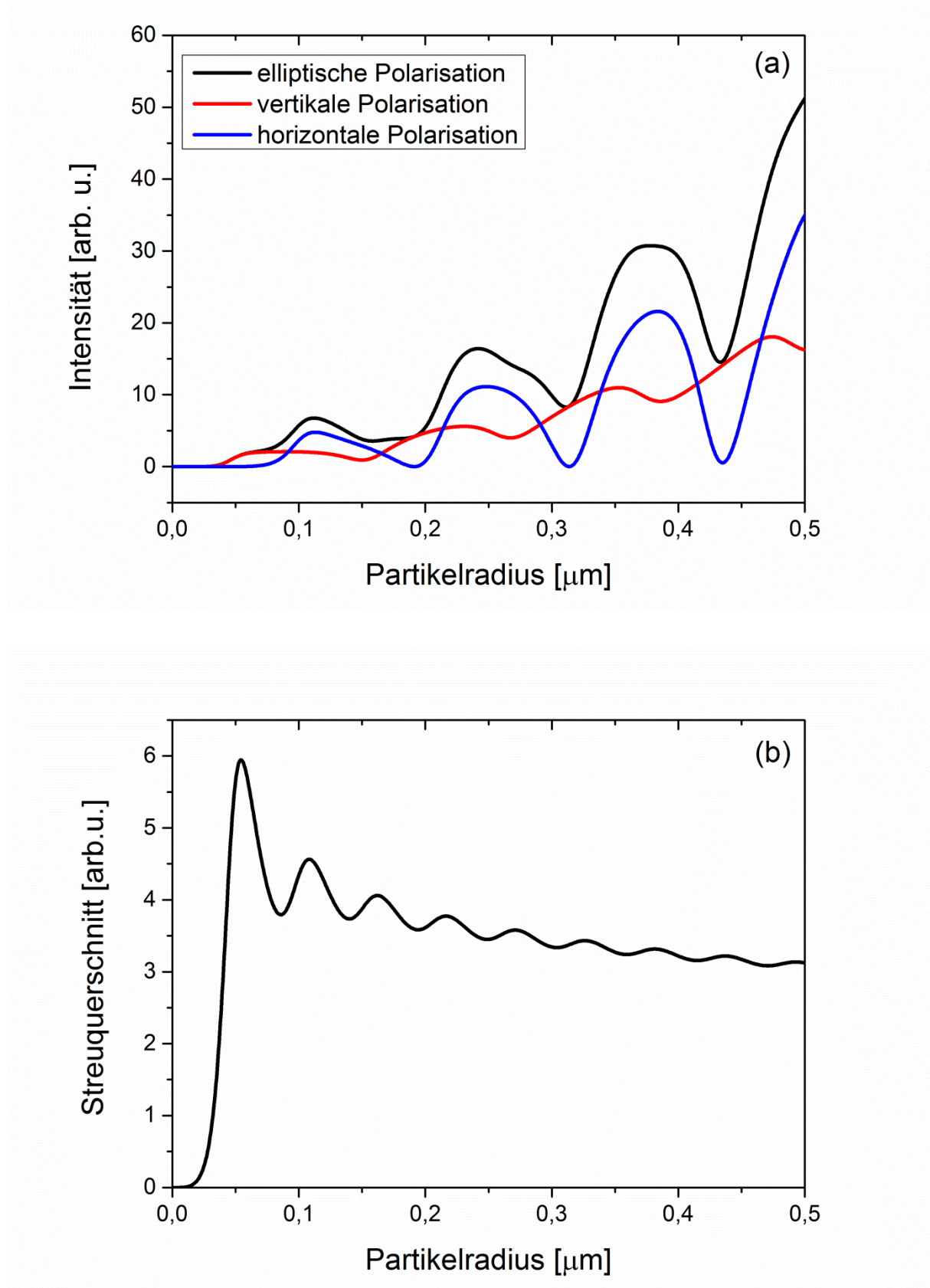


Abbildung 40: Mit der Software Scatlab⁽⁸⁸⁾ berechnete Streueigenschaften der untersuchten Silbernanopartikel (a) Streuintensitäten in Abhängigkeit der Partikelradien für unterschiedlich polarisiertes Licht der Wellenlänge 532 nm in einem Detektionswinkel von 90° . (b) Resultierende Streuquerschnitte in Abhängigkeit der Partikelradien bei 532 nm in einem Detektionswinkel von 90° .

Da das verwendete Laserlicht eine vertikale Polarisation besitzt, besitzen die zwei unterschiedlichen Partikelfractionen im Mittel folgende Streueigenschaften:

Bei der Fraktion der 45 nm Partikel (Radius = 0,0225 μm) streut ein Partikel mit einer Intensität von $I_i = 0,0171$ [arb.u.] und einem Streuquerschnitt von $C_{Sca} = 0,2957$ [arb.u.]. Nach Gleichung (3.2.4) ergibt dies eine gesamte Streuleistung von $W_{sca} = 0,0051$ [arb.u.].

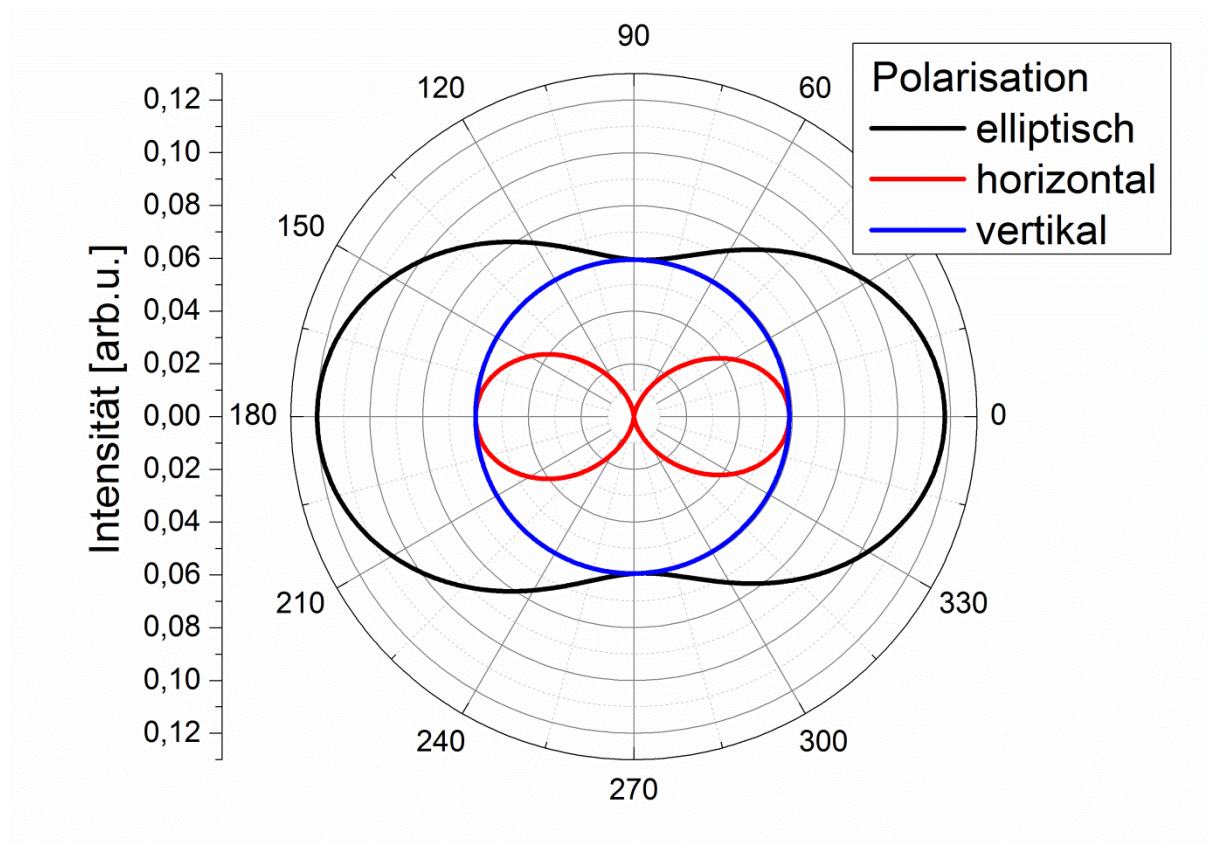


Abbildung 41: Mit der Software Scatlab⁽⁸⁸⁾ berechnete Streueigenschaften eines 45 nm Silbernanopartikels bei einer eintreffenden Wellenlänge von 532 nm.

Wird hingegen ein einzelnes 100 nm Silbernanopartikel betrachtet, so weist es eine erheblich höhere Streuintensität gegenüber dem 45 nm Silbernanopartikel auf. Diese beträgt $I_i = 1,3055$ [arb.u.]. Ebenso vergrößert sich der Streuquerschnitt auf $C_{Sca} = 5,6500$ [arb.u.]. Die hieraus resultierende, absolut gestreute Leistung liegt somit bei $W_{Sca} = 7,3768$ [arb.u.] und ist deutlich höher als bei der Fraktion der kleineren Silberkolloide.

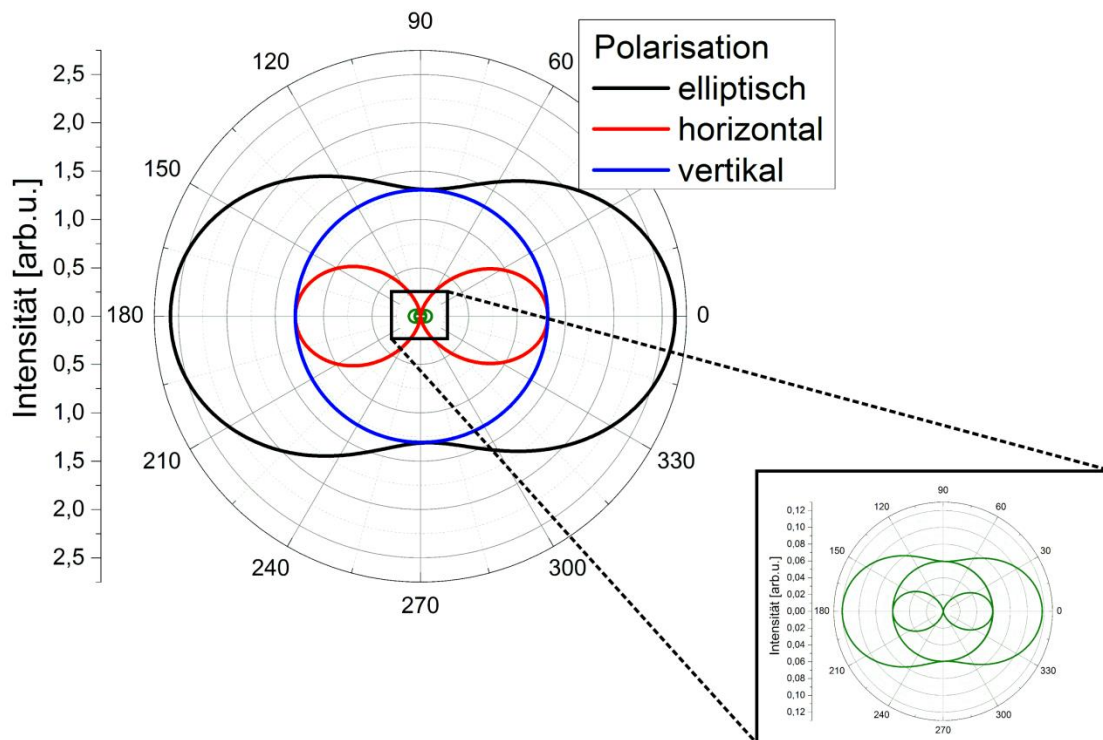


Abbildung 42: Mit der Software Scatlab⁽⁸⁸⁾ berechnete Streueigenschaften eines 100 nm Nanopartikels bei einer eintreffenden Wellenlänge von 532 nm vergleichend zu den Streueigenschaften eines 45 nm Silbernanopartikels.

Zur besseren Verdeutlichung der größenabhängigen Erhöhung der Streuintensität wurden in Abbildung 42 zu der berechneten Streueigenschaften eines 100 nm Kolloids die ermittelten Streueigenschaften eines 45 nm Silberkolloids aus Abbildung 41 hinzugezogen (grün).

Im nächsten Schritt wurde die Partikelverteilung mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM) untersucht. Um die Partikelgrößen auszuwerten, wurden mehrere rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen mit der frei erhältlichen Software „Photofiltre“⁽¹⁹⁷⁾ ausgewertet.

In der folgenden Abbildung sind zwei exemplarische REM-Aufnahmen der untersuchten citrat-stabilisierten Silbernanopartikel, welche nach der Natriumborhydrid-Methode synthetisiert wurden, dargestellt:

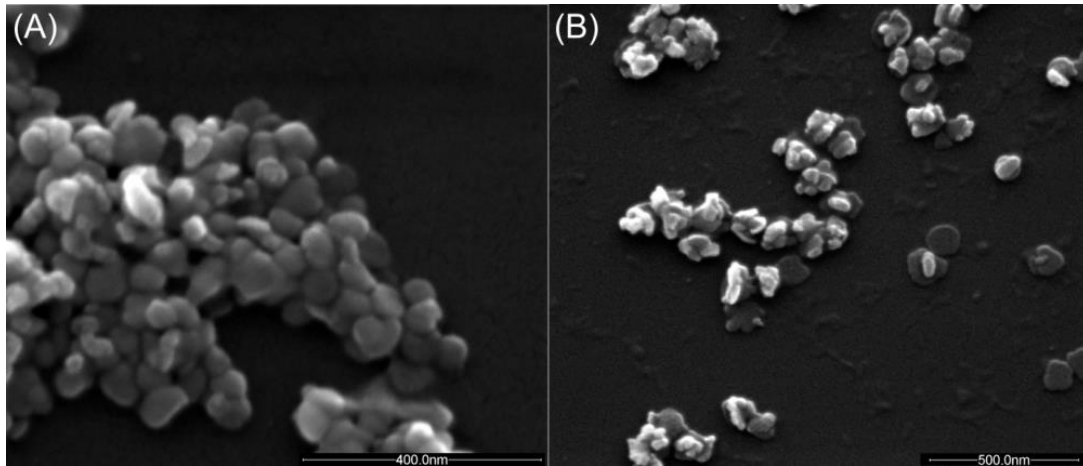


Abbildung 43: Exemplarische REM-Aufnahmen der synthetisierten 45 nm (A) und 100 nm (B) Silbernanopartikel nach der Natriumborhydrid-Methode.

Zur Auswertung der einzelnen Partikelgrößen wurden sowohl Länge als auch Breite jedes einzelnen Partikels gewertet, so dass auch bei nicht exakt sphäroidischen Partikeln eine relativ genaue Größenangabe möglich war. Es zeigte sich zudem, dass die synthetisierten citrat-stabilisierten Silbernanopartikel nach der Natriumborhydrid-Methode nicht exakt sphärisch waren. Die größeren Nanopartikel (Abbildung 43 (b)) wichen dabei stärker von der Kugelform ab als die kleineren Nanopartikel (Abbildung 43 (a)). Die auf der nächsten Seite folgenden Abbildungen zeigen die mit dem DPS-System ermittelten Daten.

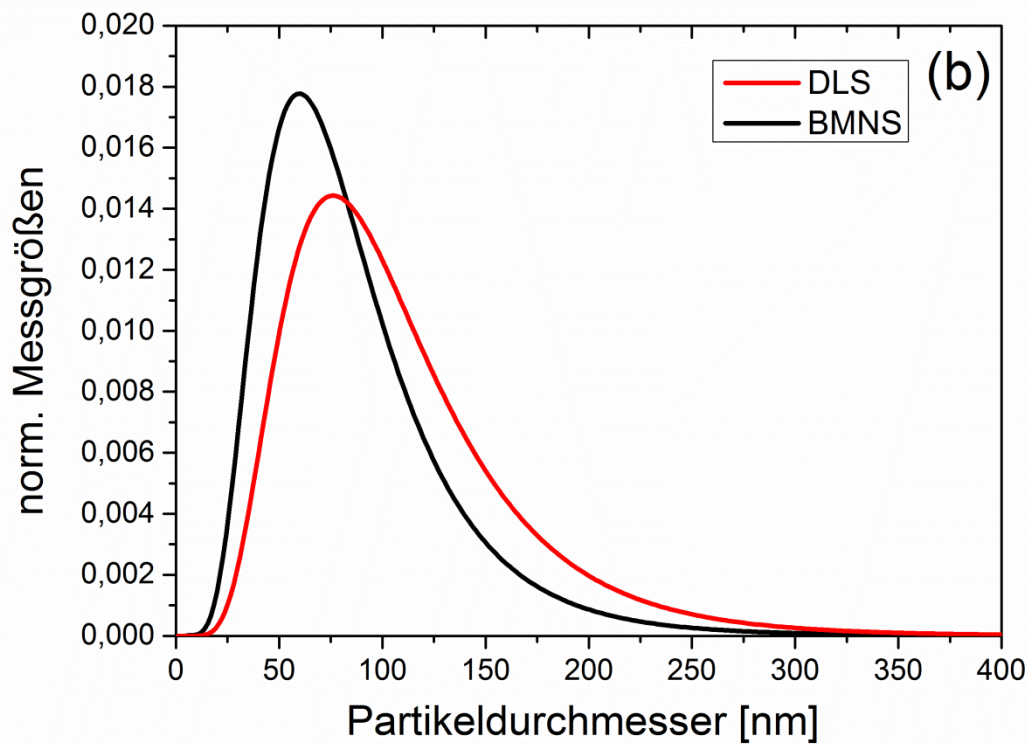
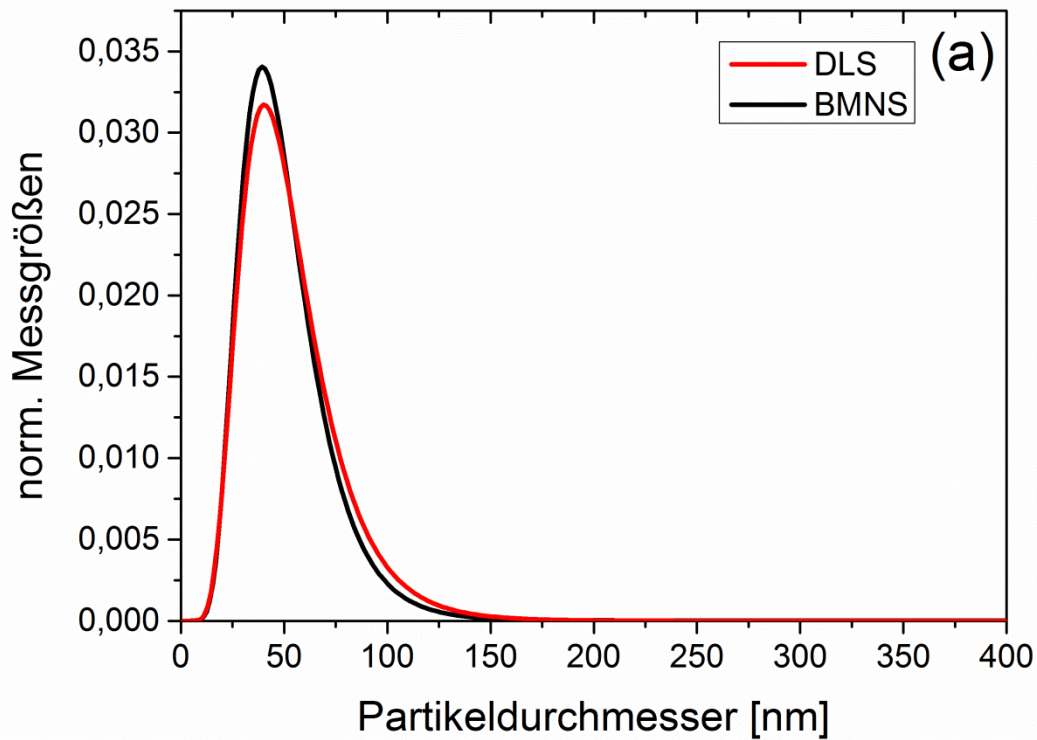


Abbildung 44: Mit dem DPS-System ermittelte Histogramme von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln nach der Natrium-Borhydrid-Methode⁽⁸¹⁾. Die Partikelverteilungen wurden hierbei auf ihre Flächen normiert((a) 45 nm (b) 100 nm).

Das erste Partikelsystem (Abbildung 44 (a)) zeigte eine relativ homogene Verteilung. Die Auswertungen der hydrodynamischen Durchmesser ergaben 49 ± 2 nm bei der dynamischen Lichtstreuung und 46 ± 3 nm aus der Beobachtung der thermischen Trajektionspfade. Die so gewonnenen Partikelverteilungen wurden auf ihre Flächen normiert und gemeinsam in ein Diagramm eingezeichnet.

Die Kombination der Histogramme, die aus den DPS-Messungen gewonnen wurden, ergab einen gemittelten hydrodynamischen Durchmesser d_H von 47 ± 3 nm. Die Auswertung der REM-Bilder lieferte einen gemittelten Partikeldurchmesser von 48 ± 3 nm. Ähnlich gestalteten sich die Ergebnisse bei der Vermessung der zweiten Partikelfraktion (Abbildung 44 (b)). Hier lieferte die BMNS einen d_H von 76 ± 5 nm, die DLS einen d_H von 96 ± 4 nm und die Auswertung der REM-Aufnahmen einen gemittelten Durchmesser von 90 ± 5 nm. Ein Log-Normal-Fit über beide Methoden (BMNS/DLS) lieferte einen Durchmesser von 86 ± 6 nm. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

	BMNS	DLS	DPS	REM
System I	46 ± 3 nm	49 ± 2 nm	47 ± 3 nm	48 ± 3 nm
System II	76 ± 5 nm	96 ± 4 nm	86 ± 6 nm	90 ± 5 nm

Tabelle 2: Ermittelte Partikeldurchmesser der verschiedenen Silbernanopartikelsysteme zur Validierung des DPS-Systems.

Die Ergebnisse zeigen, dass der Partikeldurchmesser zwischen den ermittelten Größen des BMNS und des DLS-Systems liegt. Somit bietet das neu entwickelte DPS-System eine exzellente Möglichkeit, auch nicht perfekt monodisperse Partikelsysteme genau zu charakterisieren. Zudem können beide Methoden ergänzend verwendet werden. So kann beispielsweise mit dem BMNS-System kontrolliert werden, ob ein Diffusionsgradient innerhalb der Messzelle vorliegt. Die Methode der dynamischen Lichtstreuung bietet hingegen eine wesentlich schnellere Methode zur Ermittlung der hydrodynamischen Durchmesser, da hier kein Particle-Tracking benötigt wird. Hier lassen sich die mit dem Hardware-Korrelator gewonnenen Daten sofort auswerten und somit erste Rückschlüsse auf das vorliegende System ziehen. Das DPS System bietet somit eine wesentlich erhöhte Präzision bei der Charakterisierung von realen Partikelsuspensionen und ermöglicht somit eine hohe Genauigkeit, beispielsweise bei der Bestimmung der Oberfläche von Nanopartikeln

und bei der Beurteilung von Wechselwirkungen mit in einer umweltrelevanten oder biologischen Matrix.

4.5.2. Quantifizierung agglomerierender Systeme

In dieser Messreihe wurde eine agglomerierende kolloidale Suspension von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln nach Lee-Meisel mit dem DPS-System untersucht. Hierzu wurde die Agglomeration synthetisierter Silbernanopartikel, ($d_H = 45 \pm 3$ nm) mit unterschiedlichen Konzentrationen von Kaliumnitrat (Fluka; p.a.) über einen Zeitraum von 20 Minuten beobachtet. Die hierbei eingesetzte Partikelanzahl wurde bei allen in diesem Kapitel vorgestellten Messungen konstant bei $6,33 \cdot 10^{10}$ NPs·mL⁻¹ gehalten.

In der folgenden Abbildung ist eine mit dem DPS-System gemessene resultierende salzinduzierte Agglomeration der untersuchten Partikelsuspension bei einer zugegebenen Konzentration von 0,0168 mol·L⁻¹ Kaliumnitrat dargestellt:

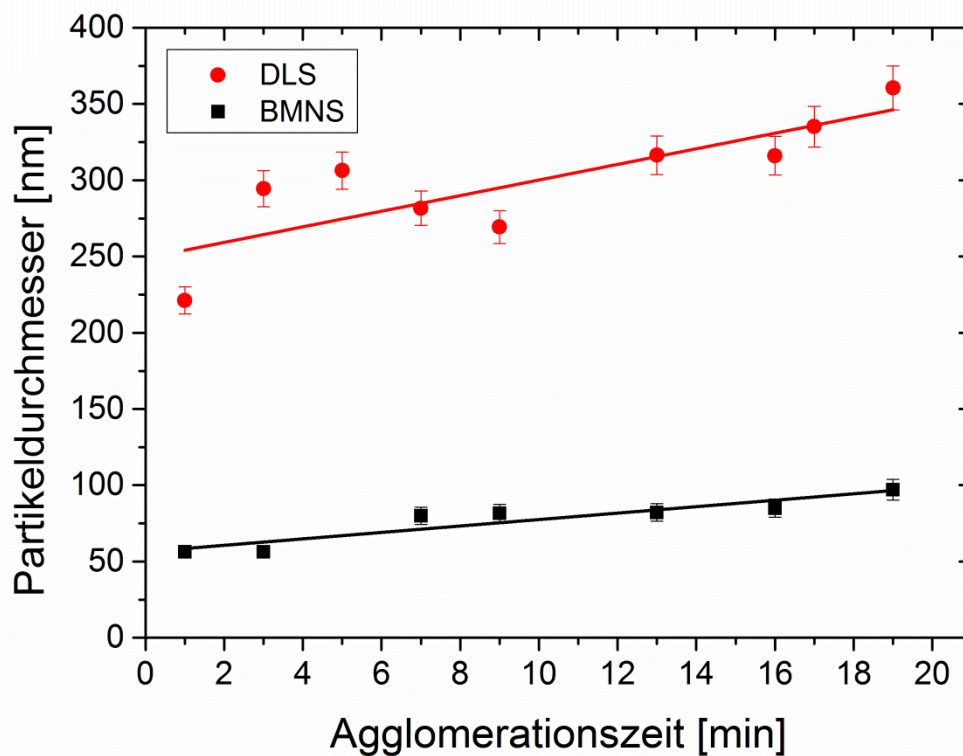


Abbildung 45: Mit dem DPS-System gemessene salzinduzierte Agglomeration von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln nach Lee Meisel⁽⁶⁹⁾. Als einwertiger Elektrolyt wurde KNO₃ (0,0168 mol·L⁻¹) eingesetzt.

Die vermessenen agglomerierenden Nanopartikel zeigten eine deutliche Zunahme der Polydispersität. Bei der Betrachtung der dynamischen Lichtstreuung ließ sich zudem eine deutliche Zunahme des hydrodynamischen Durchmessers erkennen. Dieser Größenzuwachs lässt sich vermutlich auf die Bildung einiger größerer Agglomerate zurückführen. Die anhand von Abbildung 45 ermittelten Agglomerationsgeschwindigkeiten betrugen $5,59 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$ (DLS) und $2,26 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$ (BMNS). In der folgenden Abbildung sind die gesamten mit dem DPS-System ermittelten salzinduzierten Agglomerationsgeschwindigkeiten zusammenfassend dargestellt:

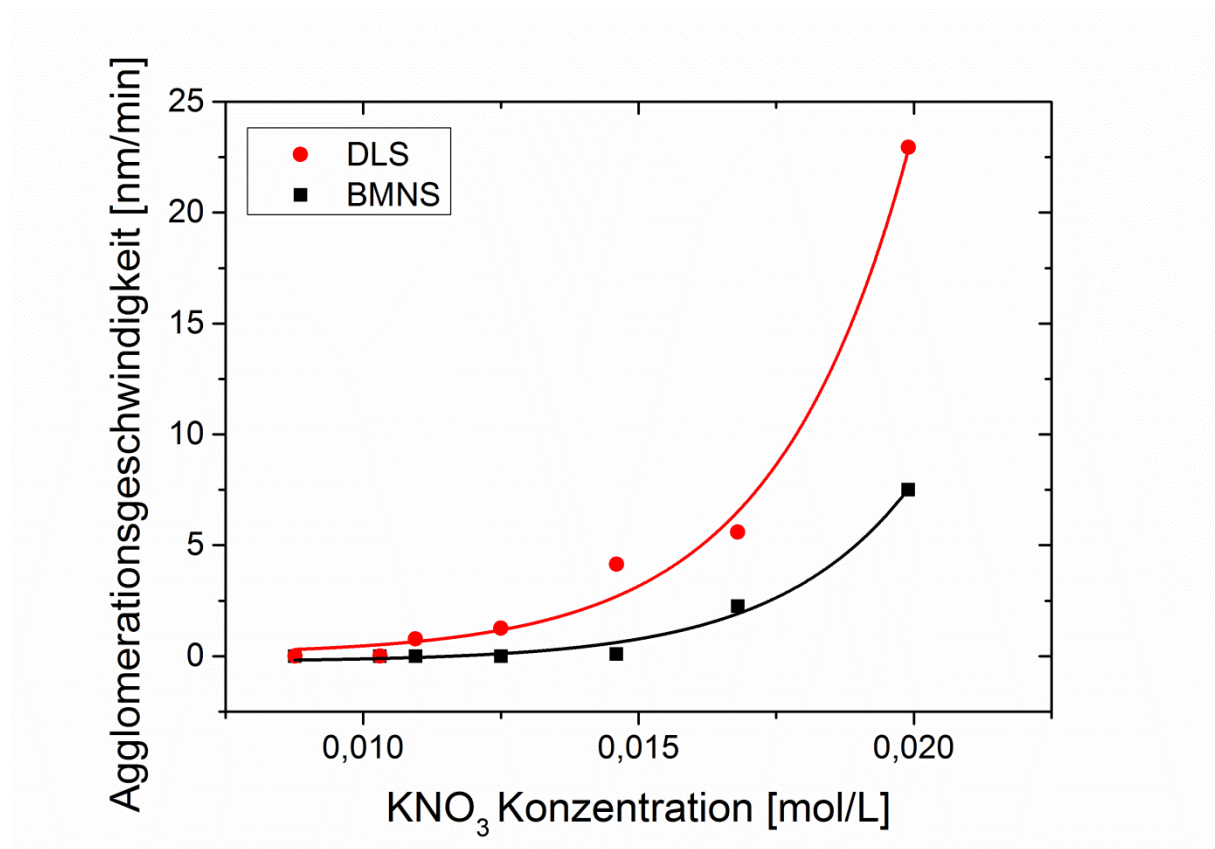


Abbildung 46: Mit dem entwickelten DPS-System gemessene salzinduzierte Agglomeration citrat-stabilisierter Lee-Meisel Kolloide unter Zugabe variierender Mengen Kaliumnitrat.

Zunächst zeigte sich ein etwa linearer Anstieg der Partikelwachstumsrate mit steigender Elektrolytkonzentration. Hier beginnt die Schwächung der repulsiven Barriere und es findet eine langsame Agglomeration statt. Ab einer Konzentration des Kaliumnitrats von etwa $0,168 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ verhält sich die mit steigender Elektrolytkonzentration einhergehende Wachstumsrate exponentiell. Im Bereich höherer Konzentration konnte zudem zu Beginn der Messung ein erhöhter hydrodynamischer Partikeldurchmesser mit der BMNS-Methode beobachtet werden. Dies deutet darauf hin, dass die repulsive Barriere hier bereits so stark geschwächt ist, dass

die Partikel beim Mischungsvorgang bereits zu agglomerieren beginnen. Hier wird der perikinetische Bereich (Agglomeration durch thermische Eigenbewegung) verlassen.

Neben den vorgestellten experimentellen Untersuchungen wurde die Zerstörung der repulsiven Barriere durch steigende Elektrolytkonzentrationen zusätzlich mit der Software Hamaker 2.2⁽¹⁵⁸⁾ simuliert. Hierzu wurden nanopartikuläre Silberkolloide mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 45 nm und einer Dichte von $10,49 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ in Wasser bei 20°C angenommen. Das Zeta-Potential der untersuchten kolloidalen Suspension wurde mit dem Zeta-Sizer der Firma Malvern ermittelt und Betrug $-14 \pm 8 \text{ mV}$. Um das Zeta-Potential zu ermitteln, werden die geladenen Partikel durch ein elektrisches Feld bewegt. Dabei werden die in der diffusen Schicht (siehe Kapitel 3.4.1.) gebundenen Gegen-Ionen abgeschert und das Partikel erscheint nach außen hin nicht mehr elektrisch neutral⁽¹⁹⁸⁾.

Für das Suspensionsmedium Wasser wurde die dielektrische Konstante $78,54 \text{ F}\cdot\text{m}^{-1}$ und eine Dichte von $1,00 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ parametrisiert. Die verwendete Hamaker-Konstante wurde entsprechend dem System kolloidales Silber/Wasser gewählt und mit $33,54\cdot 10^{-21} \text{ J}$ parametrisiert⁽¹⁹⁹⁾.

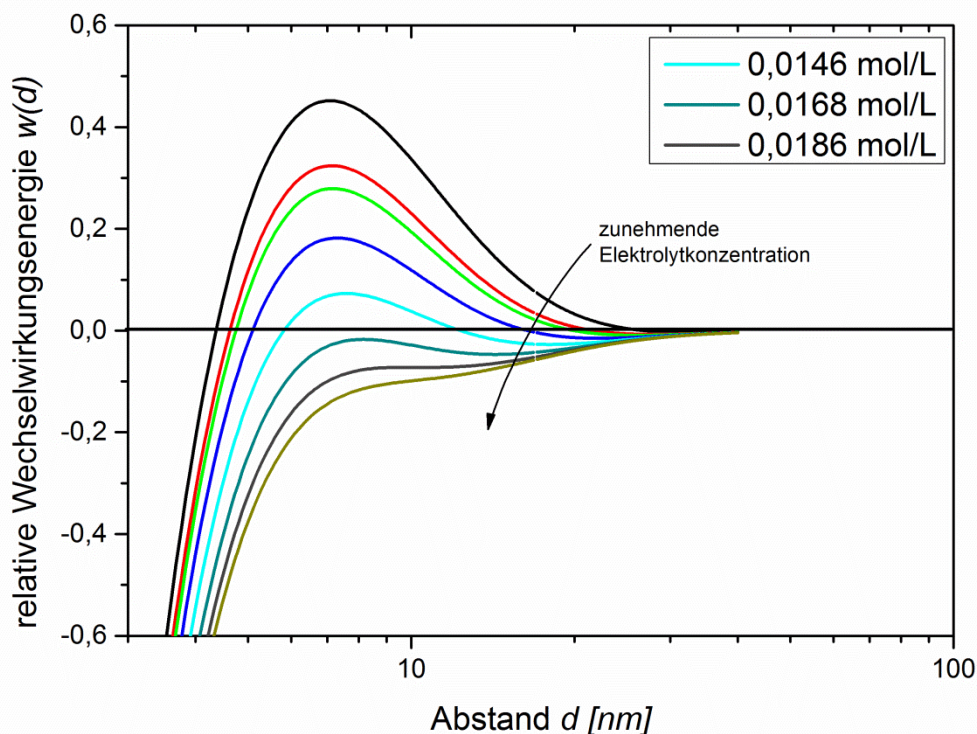


Abbildung 47: Mit der Software Hamaker 2.2.⁽¹⁵⁸⁾ berechnete relative Wechselwirkungsenergien der DLVO-Wechselwirkungen (normiert durch $k_B T$) zwischen zwei kolloidalen Silbernanopartikeln unter dem Einfluss steigender Konzentrationen eines einwertigen Elektrolyten. Die verwendeten Parameter entsprechen dem in diesem Abschnitt untersuchten Silberkolloid.

Die Simulation zeigte eine sehr gute Übereinstimmung mit den ermittelten Messergebnissen. Anhand Abbildung 47 lässt sich ebenfalls die Zerstörung der repulsiven Barriere ab einer Konzentration von circa $0,0168 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ erkennen. Zudem lässt sich gut die Abschirmung und Verringerung der Reichweite der Gegen-Ionen enthaltenden Schicht beobachten. Mit steigender Elektrolytkonzentration lässt sich eine deutliche Abnahme der repulsiven Barriere erkennen. Außerdem weisen die untersuchten Konzentrationen ab $0,0110 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ein beginnendes sekundäres Minimum auf. Dies ist deckungsgleich mit der hier beobachteten langsamen Agglomeration.

Die mit der dynamischen Lichtstreuung ermittelten Partikelwachstumsraten waren immer etwas höher als die, die mit dem BMNS-System ermittelt wurden. Das liegt in diesem Fall wiederum an der erhöhten Streuintensität der größeren Agglomerate und deutet auf eine Zunahme der Polydispersität der untersuchten kolloidalen Suspension hin.

4.5.2.1. Entwicklung eines Modells zur Quantifizierung der Partikelanzahl

In dieser Messreihe sollte untersucht werden, ob es möglich ist, reale Partikelanzahlen mit dem entwickelten DPS-System zu ermitteln. Die Idee war es, anhand der gemessenen avi-Files des BMNS-Systems auf die in der Lösung vorhandene Partikelanzahl zu schließen. Hierzu wurden Verdünnungsreihen unterschiedlicher synthetisierter Silbernanopartikel angesetzt. Die in der Lösung vorhandene absolute Partikelkonzentration wurde anhand der in der jeweiligen Synthese verwendeten Silbermenge berechnet. Anschließend wurden die einzelnen Verdünnungsreihen mit dem DPS vermessen und die in der Observationsebene vorhandenen Streuzentren anhand der erfassten avi-Files gezählt. Die so ermittelten Partikelzahlen wurden dann gegen die reale Partikelanzahl pro mL Probenvolumen aufgetragen.

Da die Observationsebene in guter Näherung eine zweidimensionale Fläche beschreibt, Konzentrationsänderungen aber im Volumen der Lösung stattfinden (dreidimensional) muss der Einfluss dieser dreidimensionalen Volumenänderungen auf die beobachtete Partikelzahl in der Observationsfläche umgerechnet werden. Daher wird die absolute in der Lösung befindliche Partikelanzahl mit dem Faktor $2/3$ potenziert. Somit konnten die untersuchten Dimensionen auf die Maßeinheit m^2 angepasst werden.

Die untersuchten synthetisierten Partikelsuspensionen nach Lee-Meisel wurden zuvor mit dem BMNS-System charakterisiert und besaßen hydrodynamische Durchmesser von 43 ± 3 nm, 52 ± 4 nm sowie 120 ± 8 nm. Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung zusammenfassend dargestellt:

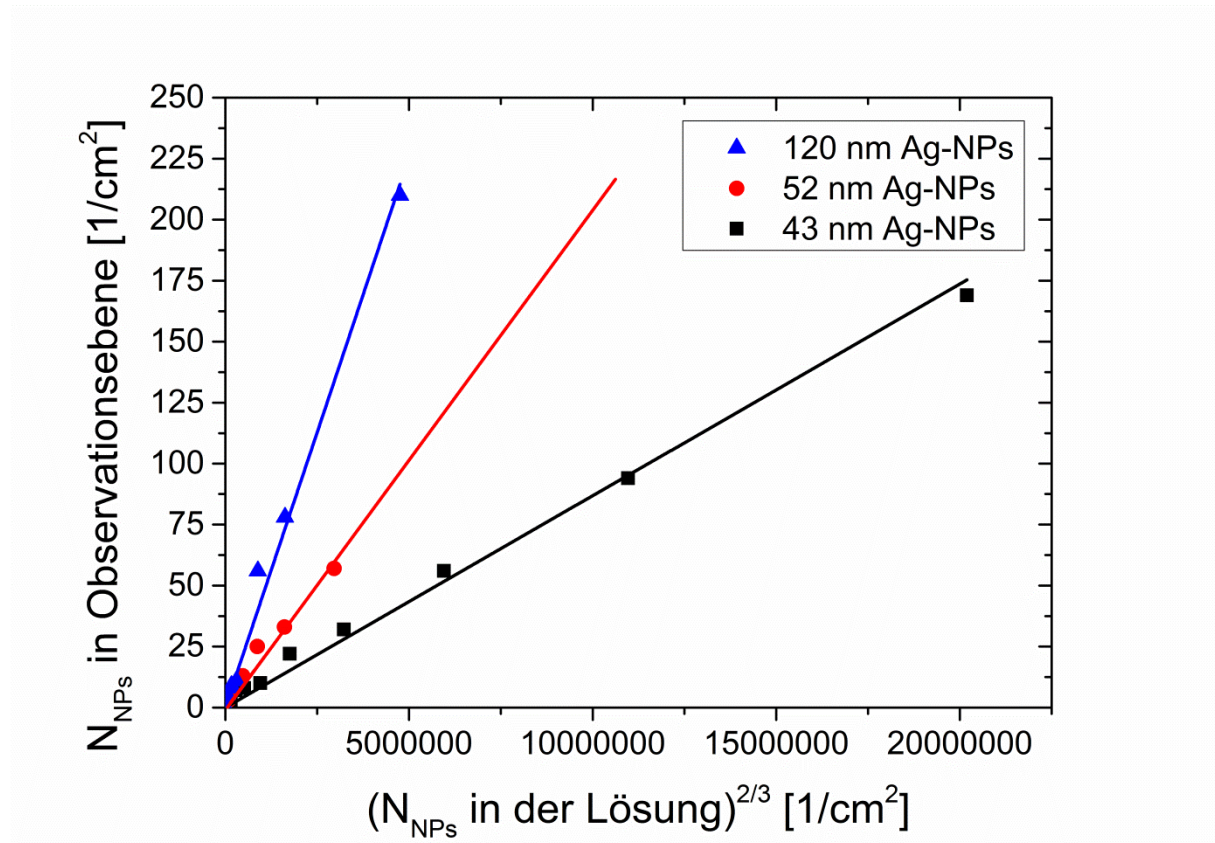


Abbildung 48: Ergebnisse der BMNS-Messungen zur Quantifizierung der vorhandenen Partikelanzahlen unterschiedlicher citrat-stabilsierter Silbernanopartikel (Lee-Meisel-Methode). Die Dimensionen der in der Observationsebene beobachteten Partikel und die der Partikel innerhalb der Lösung wurden durch Potenzieren mit dem Faktor $2/3$ angepasst.

Die in Abbildung 48 dargestellten Messergebnisse weisen einen linearen Verlauf auf. Somit ist es möglich, bei vorangegangener Kalibration mit bekannter Partikelkonzentration anhand der in der Observationsebene beobachteten Streuzentren auf die in der Lösung vorhandene reale Partikelanzahl zu schließen.

Ebenso wurden Spektren einer Verdünnungsreihe mit einem UV-Vis-Spektrometer (Jasco; V-30) aufgenommen. Es zeigte sich, dass bereits ab einer Konzentration von $8,4 \cdot 10^{10} \text{ NPs} \cdot \text{mL}^{-1}$ nur qualitativ schlechte Spektren gewonnen werden können.

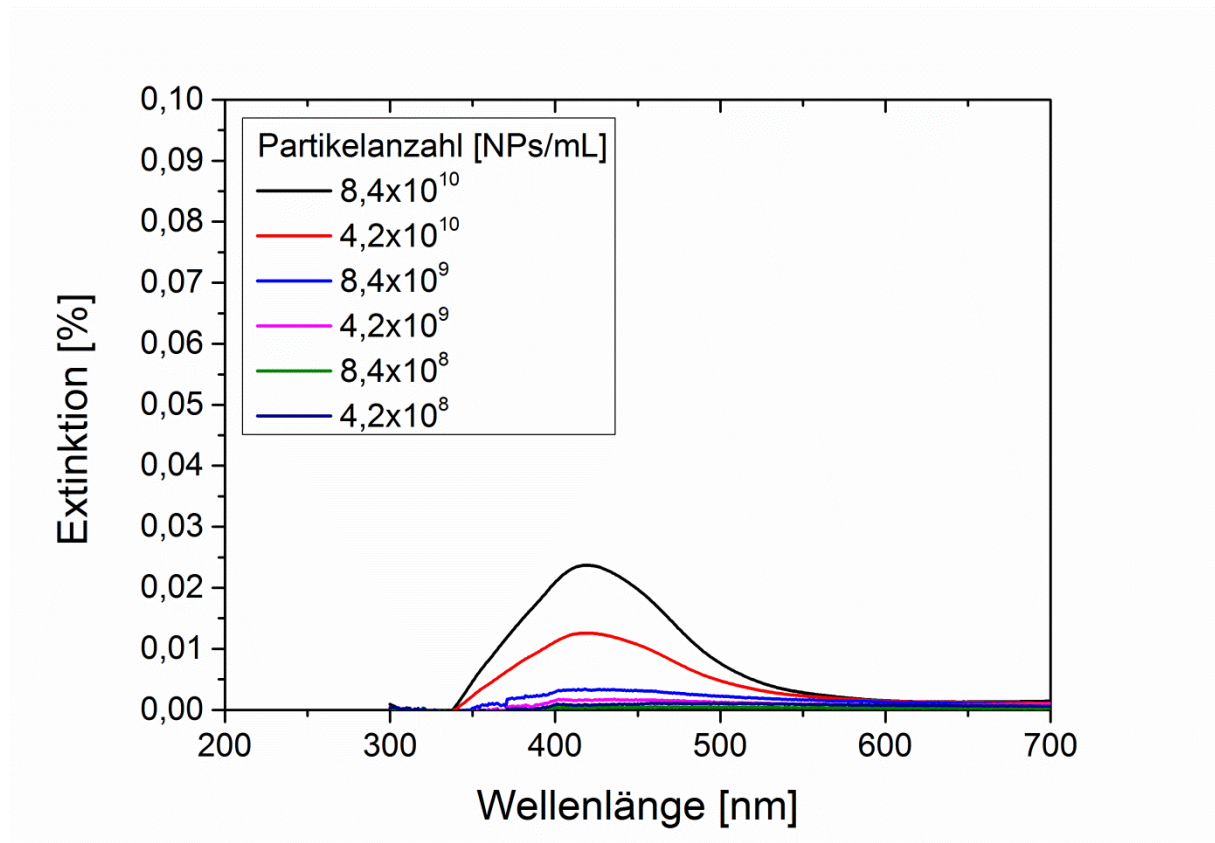


Abbildung 49: Gemessene UV-Vis-Spektren einer Verdünnungsreihe mit citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln nach Lee-Meisel⁽⁶⁹⁾ ($d_H = 52 \pm 4$ nm).

Somit bietet die BMNS-Methode eine präzise Möglichkeit um Partikelanzahlen in Suspensionen zu quantifizieren. Ein großer Vorteil dieser Methode ist zudem, dass auch Partikelanzahlen in stark verdünnten Systemen bestimmt werden können. Allerdings muss das System zuvor mit bekannten kolloidalen Suspensionen kalibriert werden.

4.5.2.2. Anwendung des Modells zur Quantifizierung der Partikelanzahl auf ein agglomerierendes System

Um genau zu klassifizieren, welche Methode für die Charakterisierung eines agglomerierenden Systems besser geeignet ist, wurde ein Verfahren entwickelt, welches auf der im Kapitel 3.4. vorgestellten Theorie und auf dem Modell zur Quantifizierung der Partikelanzahl beruht. Als Basis dienten die vorangegangenen Agglomerationsexperimente.

Die Idee war es, auf die in der Lösung vorhandene reale Partikelanzahl zu schließen. Somit könnte genau der Punkt bestimmt werden, an dem sich die initiale Partikelkonzentration auf

die Hälfte verringert hat. Die verstrichene Zeit würde demnach die Halbwertszeit t_a repräsentieren. Da in der Modellvorstellung zu diesem Zeitpunkt jedes Partikel mit genau einem weiteren Partikel ein Agglomerat gebildet haben sollte, lässt sich mit Gleichung (3.4.38) der resultierende Rotationsradius des gebildeten Agglomerats berechnen. Mit der Annahme, dass die resultierende Partikelanzahl durch die in einem Agglomerat enthaltene Anzahl primärer Partikel verringert wird, lässt sich Gleichung (3.4.38) zu folgender Gleichung umformen:

$$\frac{N_{t_0}}{N_t} = B \left(\frac{R_g}{a_l} \right)^{D_M} \quad (4.5.1)$$

Nun kann anhand Gleichung (4.5.1) der resultierende Rotationsradius mit hinreichender Genauigkeit für jeden einzelnen Punkt berechnet werden. Dies sollte dann die Ermittlung der Agglomerationsgeschwindigkeit ermöglichen.

Zunächst wurde erneut eine Verdünnungsreihe der für diese Experimente synthetisierten citrat-stabilisierten Silbernanopartikel nach Lee-Meisel gemessen. Es wurde folgende Auftragung ermittelt:

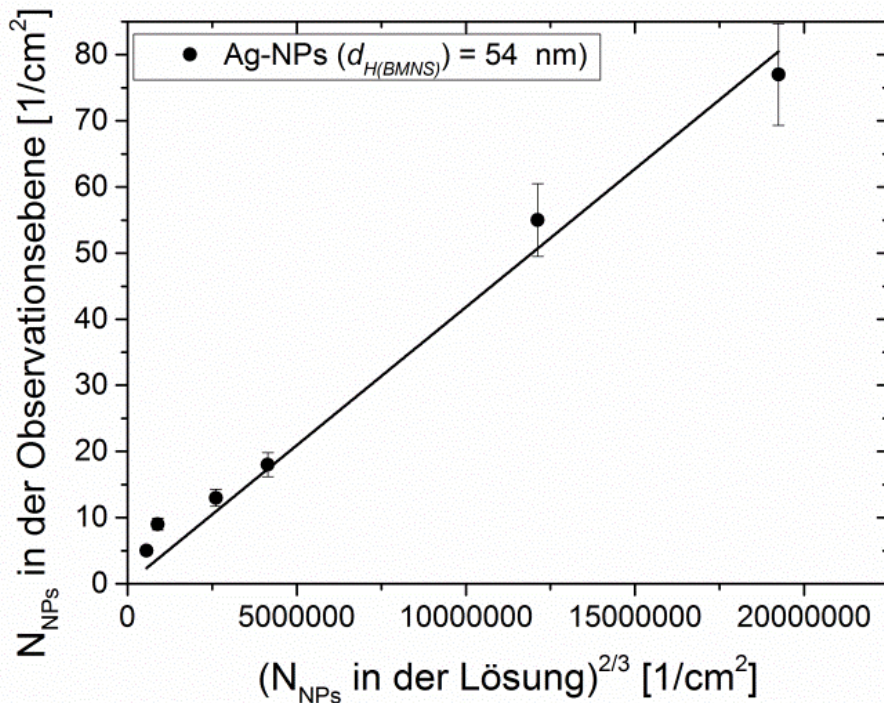


Abbildung 50: Mit dem DPS-System gemessene Verdünnungsreihe zur Bestimmung der vorhandenen Partikelanzahl der in dieser Versuchsreihe verwendeten 54 nm citrat-stabilisierten Silbernanopartikel (Lee-Meisel-Methode).

Die resultierende Partikelanzahl und somit die Verringerung der primären Partikelanzahl konnte nun für alle gemessenen Punkte der zu untersuchenden Agglomerationsmessung bestimmt werden. Wird dieses Verfahren beispielsweise auf Abbildung 45 angewandt, so können folgende resultierende Partikelgrößen mit dem hier vorgestellten Verfahren der Agglomerationsprozess simuliert werden:

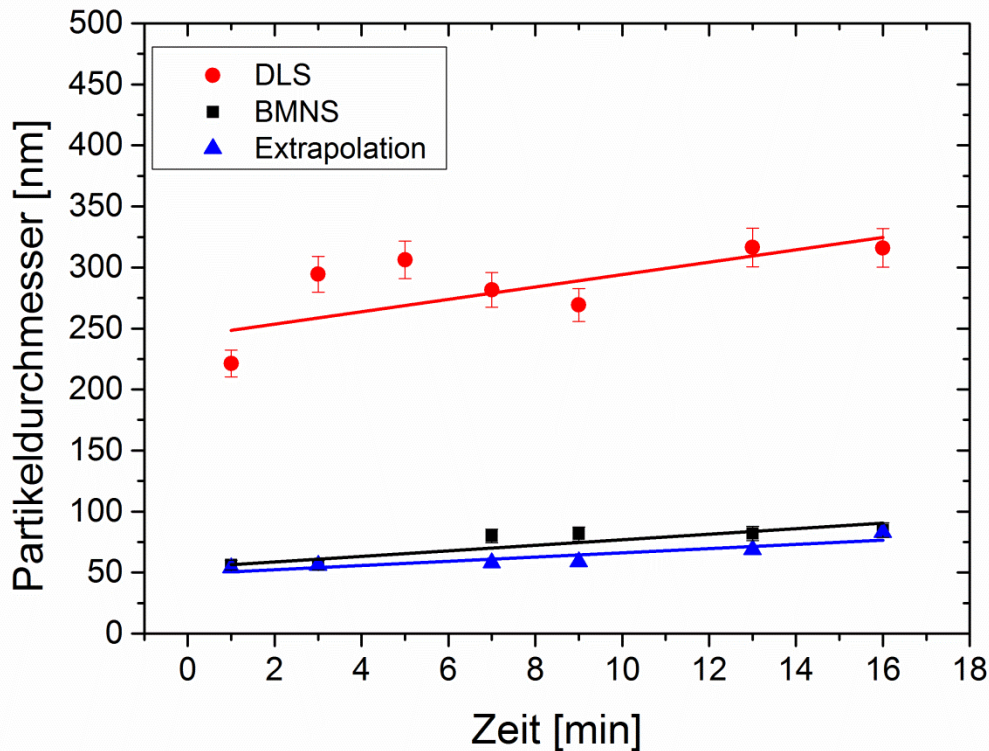


Abbildung 51: Mit dem DPS-System gemessene salzinduzierte Agglomeration von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln mit dem einwertiger Elektrolyt KNO_3 ($0,0168 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Die blaue Funktion wurde mit dem in diesem Abschnitt beschriebenen Prinzip extrapoliert.

Folgende sind die in Abbildung 51 dargestellten, gemessenen und die aus der beobachteten Partikelanzahl mit Gleichung (4.5.1) extrapolierte Partikelgrößen tabellarisch dargestellt:

Tabelle 3: Datentabelle zur gemessenen und extrapolierten salzinduzierten Agglomeration citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln (Abbildung 51).

Zeit [min]	1	3	5	7	9	13	16
DLS [nm]	221 ±11	294 ±15	306 ±15	282 ±14	269 ±14	316 ±16	316 ±16
BMNS [nm]	56 ±4	56 ±4	-	80 ±6	82 ±6	82 ±6	85 ±6
Extrapolation [nm]	54	56	-	58	59	69	83

Dieses Verfahren wurde nun auf alle gemessenen Agglomerationsfunktionen angewandt und die resultierenden Agglomerationsgeschwindigkeiten wurden ermittelt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung dargestellt.

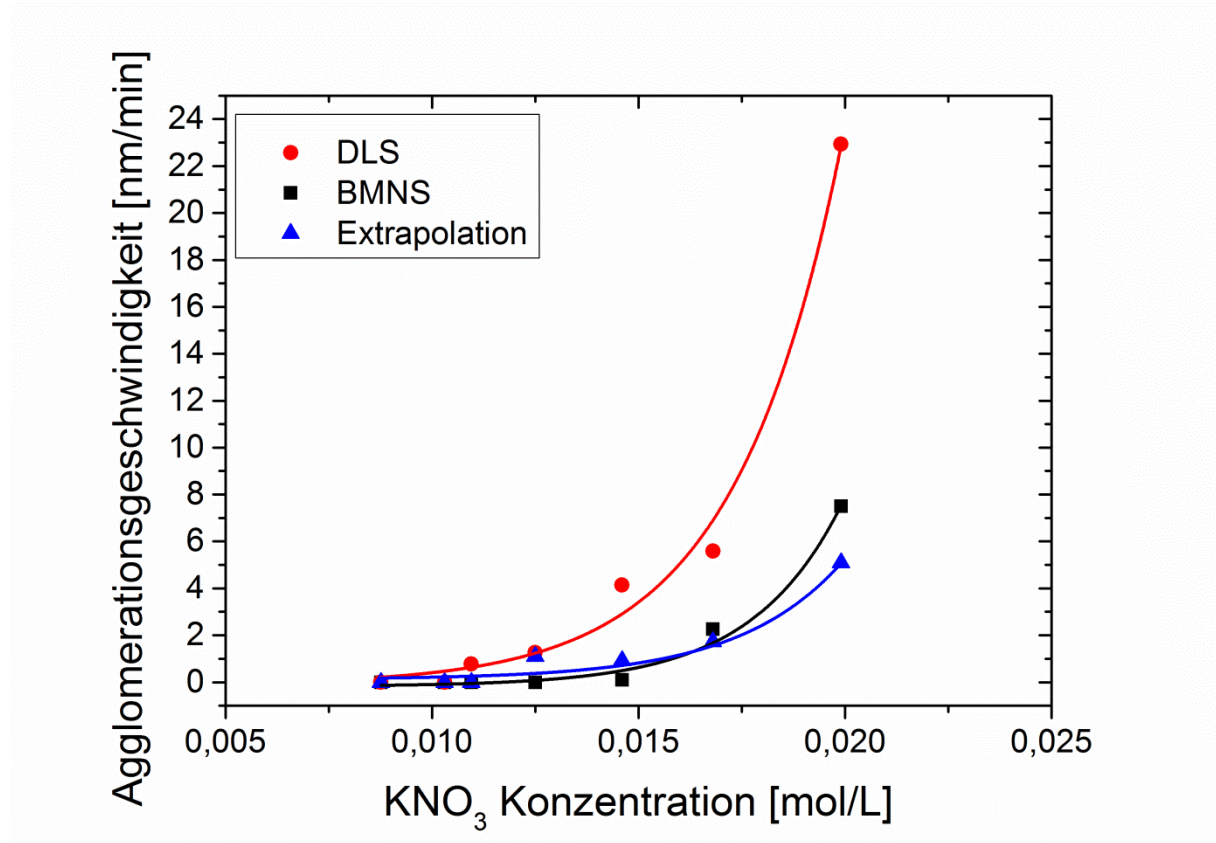


Abbildung 52: Mit dem DPS-System gemessene salzinduzierte Agglomerationsgeschwindigkeiten. Die blaue Funktion beschreibt die aus der resultierenden Partikelanzahl extrapolierte Agglomerationsfunktion.

Anhand Abbildung 52 lässt sich erkennen, dass sich das agglomerierende System besser durch die Beobachtung der thermischen Trajektionspfade als durch die Detektion der dynamischen Lichtstreuung beschreiben lässt. Dies war zu erwarten, da die Streueffizienz selbst bei nur wenigen vorhandenen Agglomeraten stark erhöht wird. Das BMNS-System beobachtet hingegen die Fraktion, die die größere Partikelanzahl repräsentiert und liefert hier somit eine höhere Genauigkeit als das DLS-System. Interessanterweise lässt sich zudem anhand der durchgeführten Extrapolation ebenfalls der Punkt bestimmen, in dem der Wechsel von langsamer zur schnellen Agglomeration stattfindet. Da das System an diesem Punkt bereits bei der Durchmischung von kolloidaler Suspension und Elektrolytlösung zu agglomerieren begann, besitzt hier das Modell der perikinetischen Agglomeration nur eingeschränkte Gültigkeit. Deshalb liegt die simulierte Agglomerationsgeschwindigkeit in diesem Fall sogar unterhalb der mit dem BMNS-System detektierten Geschwindigkeit.

Zusammenfassend zeigte sich, dass das neu entwickelte DPS-System eine gute Möglichkeit zur Beschreibung eines agglomerierenden Systems liefert. Das Verfahren des BMNS-Teils bietet hier eine wesentlich höhere Sensitivität und der Einsatz des DLS-Systems erlaubt eine präzisere Bestimmung des vorliegenden Agglomerationszustands des vorliegenden Systems.

5. Experimentelle Ergebnisse

Um die Risiken, ausgehend von möglichen Expositionsrouten von Nanopartikeln in Umweltkompartimente genauer abschätzen zu können, ist es unabdingbar, die Wechselwirkungen dieser Partikel mit den verschiedensten Bestandteilen der natürlichen Matrix (Huminstoffe, ionische Komponenten, etc.) genau zu kennen. Mit Hilfe der entwickelten Systeme können genaue Daten über das Verhalten der Partikel bei Kontakt mit umweltrelevanten Medien untersucht werden. Zudem werden in den folgenden Kapiteln neue methodische Möglichkeiten der Charakterisierung von Wechselwirkungen von partikulären Systemen mit aquatischen Komponenten vorgestellt. Abschließend wird das Vorhandensein und das Verhalten von nanopartikulären Komponenten in realen natürlichen und urbanen Gewässern untersucht.

5.1. Einfluss von ionischen Komponenten auf ladungsstabilisierte Silbernanopartikel

In dieser experimentellen Messreihe wurde der Einfluss ionischer Komponenten auf ladungsstabilisierte Silbernanopartikel untersucht. Hierzu wurde das Agglomerationsverhalten synthetisierter Lee-Meisel Silberkolloide mit unterschiedlich geladenen Elektrolytlösungen beobachtet. Die verwendeten Kolloide wurden zuvor mit dem BMNS-System und mit REM charakterisiert. Die Messungen mit dem BMNS-System ergaben einen hydrodynamischen Durchmesser von 50 ± 4 nm und die Charakterisierung mittels REM ergab einen Durchmesser von 47 ± 3 nm.

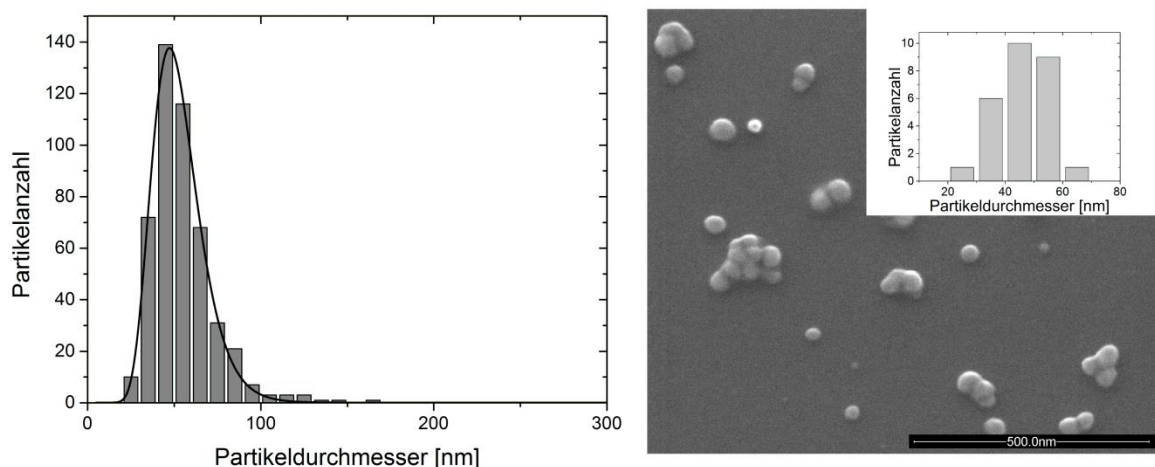


Abbildung 53: BMNS- und REM-Charakterisierung der in dieser Versuchsreihe verwendeten citrat-stabilisierten Silbernanopartikel (Lee-Meisel-Methode). Das BMNS-System lieferte einen hydrodynamischen Durchmesser von 50 ± 4 nm und die Auswertung der REM-Aufnahmen einen hydrodynamischen Durchmesser von 47 ± 3 nm.

Die Anzahl der in den Experimenten vorhandenen Nanopartikel wurde hierbei bei allen Messungen konstant gehalten und betrug $1,75 \times 10^{11} \text{ NPs} \cdot \text{mL}^{-1}$ ⁽⁹⁶⁾. Alle in diesem Kapitel vorgestellten Messungen wurden mit dem BMNS-System durchgeführt, da sich das DPS-System zu diesem Zeitpunkt noch in der Entwicklung befand. Die in diesem Abschnitt vorgestellten Agglomerationsstudien wurden im „Journal of Colloid and Interface Science“ publiziert⁽⁹⁶⁾

5.1.1 Experimentelle Bestimmung von Kollisionseffizienzen

Um den Einfluss der ionischen Komponenten auf ladungsstabilisierte Nanopartikel zu untersuchen, wurde ein Verfahren entwickelt, welches auf den im Kapitel 3.4.3 beschriebenen theoretischen Grundlagen zur Agglomerationskinetik beruht. Hierzu wurden ausgehend von den gemessenen Agglomerationsfunktionen, Agglomerationskinetiken berechnet wie in dem folgenden Beispiel beschrieben. Die folgende Abbildung zeigt exemplarisch eine salzinduzierte zeitliche Zunahme des hydrodynamischen Partikeldurchmessers.

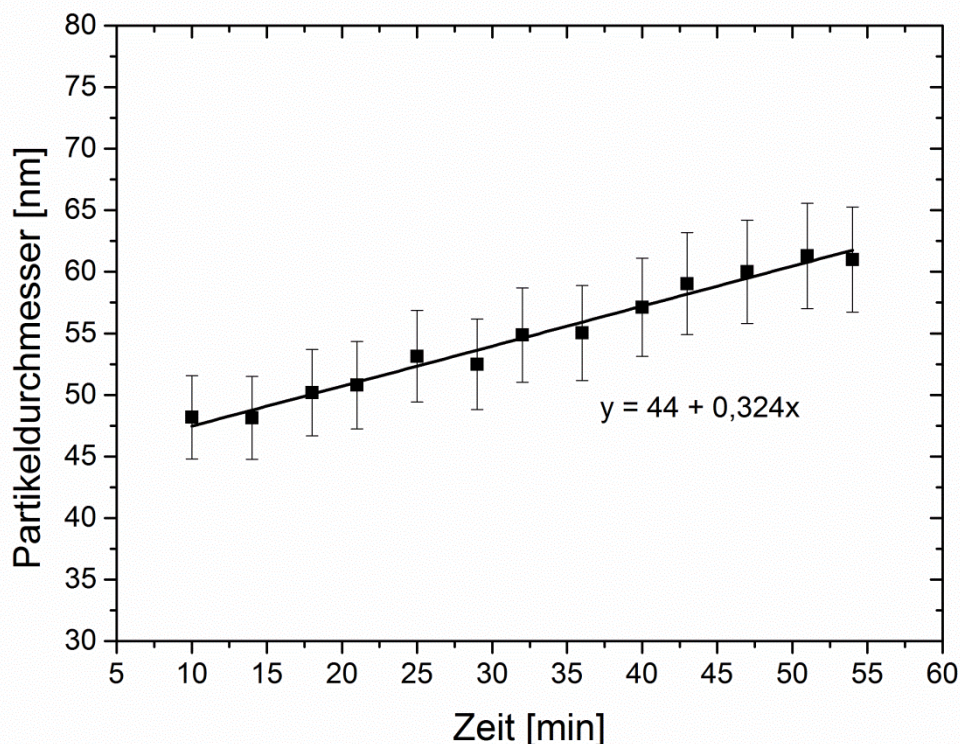


Abbildung 54: Messung des Agglomerationsverhaltens von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln (Lee-Meisel-Methode), welche mit einer $0,011 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$ -Lösung versetzt wurden.

Ausgehend von einer in Abbildung 54 dargestellten Agglomerationsfunktion lassen sich sowohl die Agglomerationsrate als auch die Effizienz der Partikelkollisionen und somit das Maß der Partikelstabilität bestimmen. Die Agglomerationsrate wird anhand der Steigung bestimmt und gibt den zeitlichen Verlauf des Partikelwachstums in $\text{nm} \cdot \text{min}^{-1}$ wieder.

Um aus den gemessenen Agglomerationsfunktionen experimentelle Kollisionsraten zu bestimmen, muss zunächst anhand Gleichung (3.4.38) der resultierende Rotationsradius eines aus zwei primären Partikeln bestehenden Agglomerats berechnet werden. Mit dem so erhaltenen Rotationsradius kann die Halbwertszeit t_a , also die Zeit, in der sich die initiale Partikelkonzentration N_0 halbiert hat, ausgehend von den gemessenen Agglomerationsfunktionen, bestimmt werden. Mit der Halbwertszeit t_a kann die Kollisionsrate k_a durch Gleichung 3.4.32 bestimmt und mit der maximalen Kollisionsrate $k_{a,\max}$ verglichen werden.

Die Kollisionseffizienz ergibt sich schließlich aus den Quotienten $k_a/k_{a,\max}$. Aus der Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek-(DLVO)-Theorie^(145,146) folgt, dass die repulsive Barriere von ladungsstabilisierten Partikeln mit zunehmender Elektrolytkonzentration abnimmt. Wenn die repulsive Barriere komplett zerstört wird, ist $k_a=k_{a,\max}$. Somit führt jede Partikelkollision zur Bildung eines Agglomerates; die resultierende Kollisionseffizienz liegt dann bei 1. Ist $k_a < k_{a,\max}$ führt nicht jede Kollision zur Agglomeration und der Quotient aus $k_a/k_{a,\max}$ bestimmt in diesem Fall den Anteil der Kollisionen, der zu einer erfolgreichen Agglomeration führt⁽⁹⁶⁾.

5.1.2. Agglomerationsstudien mit einfach geladenen Ionen

In dieser Versuchsreihe wurde zunächst das Verhalten der citrat-stabilisierten Lee-Meisel Kolloide bezüglich einfach geladener ionischer Komponenten untersucht. Für diese Experimente wurden Kaliumnitrat (Fluka; KNO_3 , p.a.) und Kaliumdihydrogenphosphat (Sigma-Aldrich; KH_2PO_4 , p.a.) als einfach geladene ionische Komponenten eingesetzt. Kaliumnitrat wurde ausgewählt, da bereits, bedingt durch die Synthese mit Silbernitrat ein gewisser Anteil Nitrat in der Lösung vorhanden ist. Um den Einfluss des Anions auf das Agglomerationsverhalten zu untersuchen, wurde bei der Wahl der zweiten Komponente nur das Anion verändert, während das Kation konstant gehalten wurde.

In der folgenden Abbildung sind die Ergebnisse dieser Studie dargestellt.

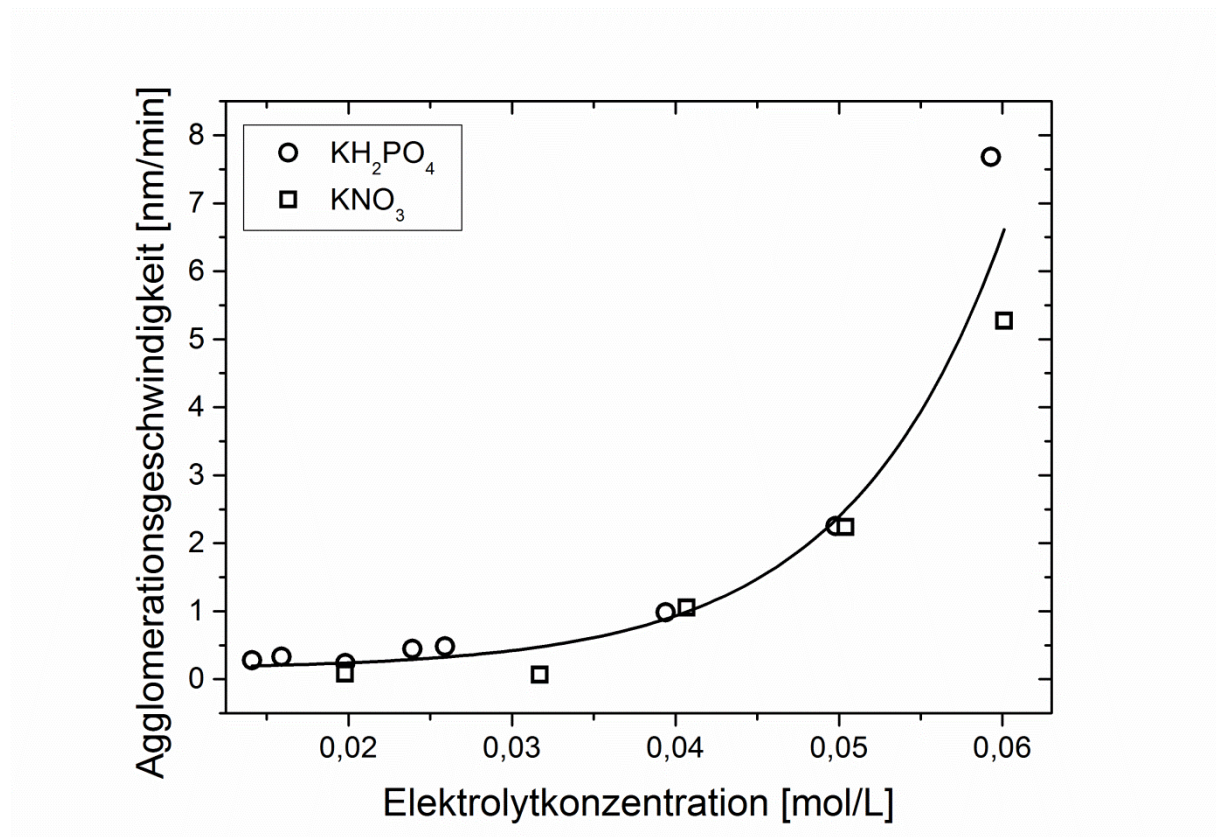


Abbildung 55: Resultierende Zunahme der gemittelten Partikeldurchmesser [$\text{nm} \cdot \text{min}^{-1}$] aus verschiedenen Agglomerationsstudien an citratstabilisierten Silbernanopartikeln (Lee-Meisel-Methode) mit unterschiedlich konzentrierten einfach-geladenen Elektrolytlösungen⁽⁹⁶⁾.

Anhand Abbildung 55 lässt sich erkennen, dass die hier verwendeten unterschiedlichen einfach geladenen Elektrolytlösungen den gleichen Effekt auf die Agglomerationskinetik des Silberkolloids aufweisen. Bei niedriger Ionenkonzentration lässt sich eine schwache und in etwa lineare Konzentrationsabhängigkeit der Agglomerationsrate beobachten. Des Weiteren lässt sich bei höheren Elektrolytkonzentrationen ein exponentieller Anstieg der Agglomerationsgeschwindigkeit erkennen⁽⁹⁶⁾.

Zusätzlich konnte ein größerer Partikeldurchmesser bei Beginn der Agglomerationsmessungen ab einer Salzkonzentration von etwa $0,04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ beobachtet werden. Hier wird der Bereich, in dem die Annahmen der perikinetischen Agglomeration Gültigkeit besitzen, verlassen. Die repulsive Barriere der einzelnen Partikel ist an diesem Punkt so stark zerstört, dass die Partikel bereits beim Überführen vom Mischungsbehälter in die Messzelle zu agglomerieren beginnen. Hier wird der Gültigkeitsbereich der orthokinetischen, also der durch Strömung beeinflussten Agglomeration, erreicht. An diesem

Punkt entspricht $k_a = k_{a,max}$ und jede Kollision zweier Partikel führt sofort zur Bildung eines Agglomerats⁽⁹⁶⁾.

Ebenfalls bemerkenswert ist, dass bei dieser Untersuchung der Prozess der Agglomeration unabhängig von der chemischen Natur des Anions ist und nur von der Ladung des Salzes abhängt. Beide Salze besitzen also denselben Einfluss auf die repulsive Barriere der Nanopartikel⁽⁹⁶⁾.

Um die repulsive Barriere des untersuchten Kolloids genauer zu untersuchen, wurden im nächsten Schritt die Kollisionseffizienzen der einzelnen Agglomerationsmessungen, wie im vorigen Kapitel beschrieben, berechnet und anteilmäßig als $k_a/k_{a,max}$ gegen die Konzentration aufgetragen.

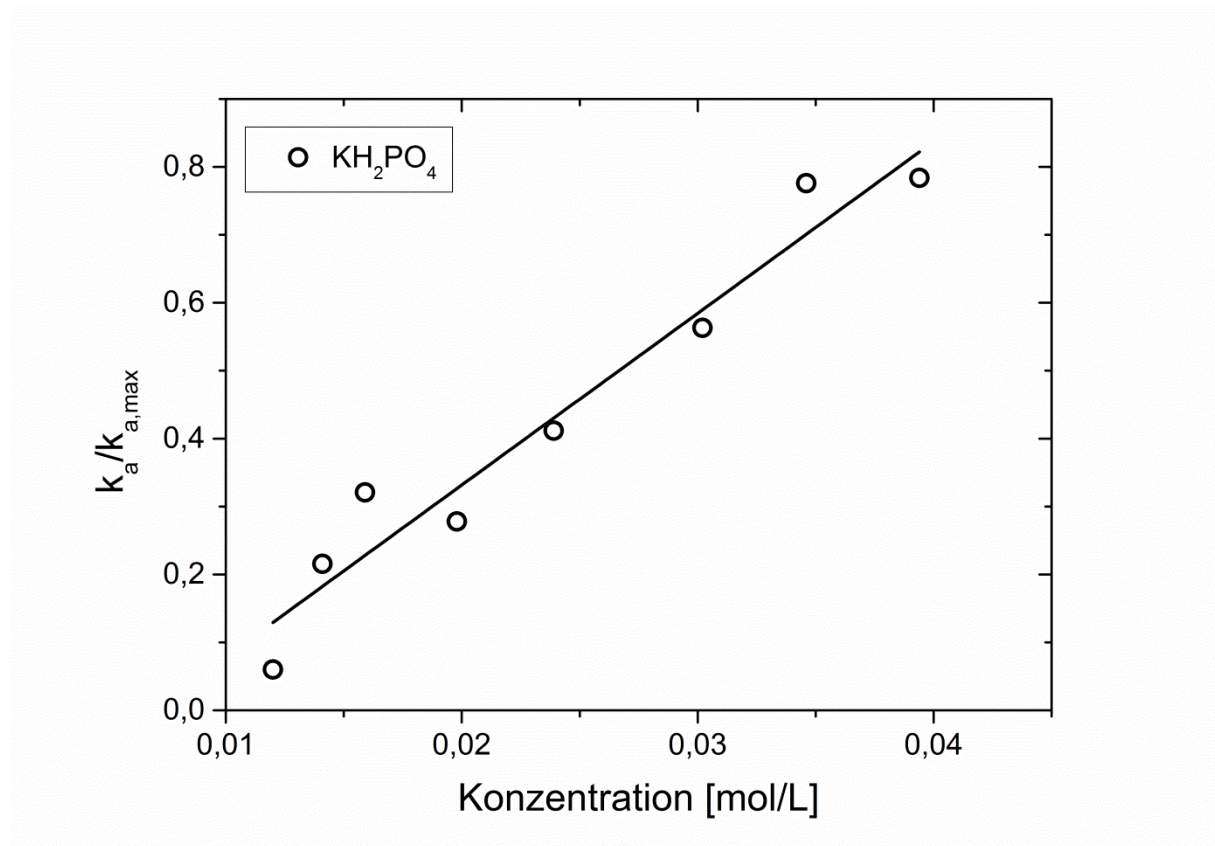


Abbildung 56: Anhand von Agglomerationsmessungen berechnete Kollisionseffizienzen mit verschiedenen KH_2PO_4 -Konzentrationen⁽⁹⁶⁾.

In Abbildung 56 lässt sich erkennen, dass die aus den Experimenten erhaltenen Daten gut zu den Annahmen des DLVO-Modells passen und die erwartete lineare Abhängigkeit zeigen. Mit zunehmender Erhöhung der Salzkonzentration geht eine zunehmende Zerstörung der

repulsiven Barriere einher, bis letztendlich die Konzentration erreicht wird, an dem die Barriere komplett zerstört ist. Dies resultiert dann in einer Kollisionseffizienz von 1⁽⁹⁶⁾.

Nun konnte ausgehend aus Abbildung 56 ein neues Verfahren entwickelt werden, um Elementarladungen von einzelnen Nanopartikeln zu bestimmen. Beginnend mit der Ausgleichsgeraden in Abbildung 56 lässt sich genau der Punkt bestimmen, an dem die repulsive Barriere der einzelnen Partikel komplett destabilisiert ist. An diesem Punkt ist $k_a = k_{a,max}$. Somit lässt sich anhand der vorliegenden Elektrolytkonzentration die Ladung berechnen, die zur Neutralisierung der repulsiven Barriere benötigt wird. Da die Partikelkonzentration bekannt ist, kann aus der Gesamtladung des Elektrolyten die durchschnittliche Ladung der stabilisierenden Barriere der Partikel mit angemessener Präzision bestimmt werden.

Hervorgehend aus den Daten dieser Messung ergab die Extrapolation der linearen Korrelation in Abbildung 56, dass die repulsive Barriere bei Zugabe einer Salzlösung der Konzentration von $0,0465 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Kaliumdihydrogenphosphat komplett zerstört wird. Dies entspricht einem Ladungstransfer von $2,80 \times 10^{19}$ Elektronen pro m^3 . Unter Berücksichtigung der vorhandenen Partikelkonzentration von $1,75 \times 10^{17}$ Nanopartikel pro m^3 ergibt dies eine Ladung der stabilisierenden repulsiven Barriere von ~ 160 Elementarladungen pro Nanopartikel. Dies stimmt mit den Erwartungen für diese Art von Kolloiden überein⁽²⁰⁰⁻²⁰³⁾.

Die hier vorgestellte Destabilisierung der repulsiven Barriere wurde zudem mit der Software Hamaker 2.2. simuliert. Für diese Simulation wurden erneut die in Kapitel 4.5.2. verwendeten Parameter ($\rho_{(Silber)} = 10,49 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$; $\epsilon_{(Wasser)} = 78,54 \text{ F} \cdot \text{m}^{-1}$; $\rho_{(Wasser)} = 1,00 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) benutzt. Einzig das Zeta-Potential dieser Charge citrat-stabilisierter Silbernanopartikel wurde auf -21 mV gesetzt, da das hier verwendete Silberkolloid eine höhere Stabilität besaß. Diese Simulation zeigte eine äußerst exakte Übereinstimmung mit den hier vorgestellten Messungen. Hier konnte ebenfalls eine komplette Destabilisierung der repulsiven Barriere ab einer Konzentration von $0,04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ eines einwertigen Elektrolyten simuliert werden.

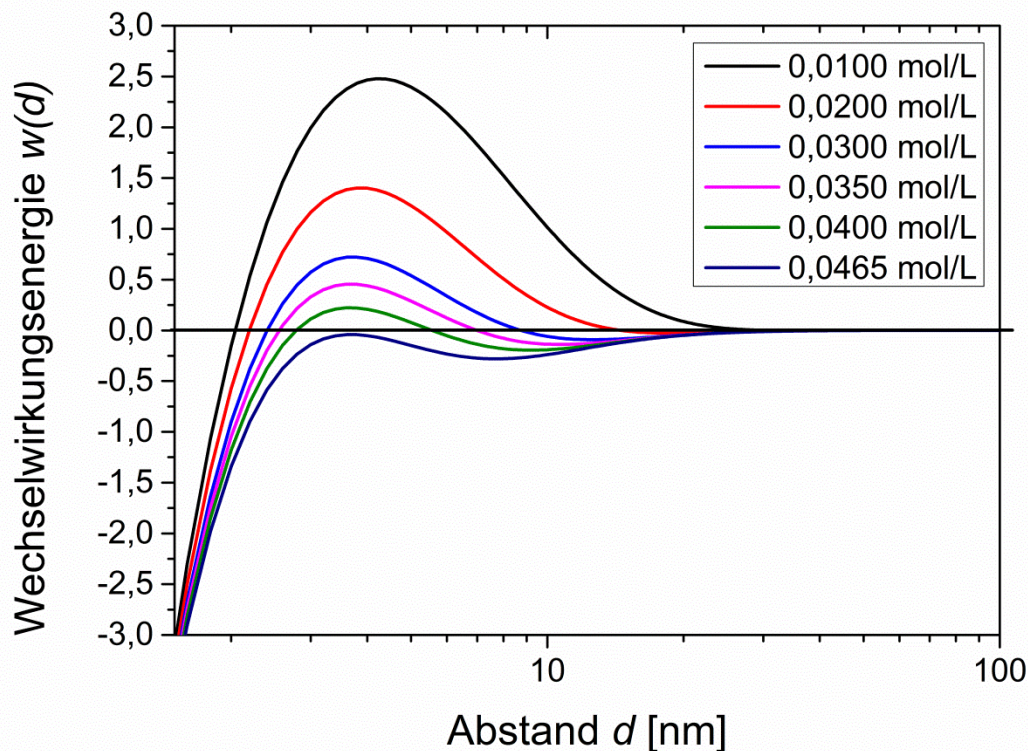


Abbildung 57: Mit der Software Hamaker 2.2.⁽¹⁵⁸⁾ berechnete relative Wechselwirkungsenergien (normiert auf $k_B \cdot T$) ladungsstabilisierter Silbernanopartikel ($d_H = 45$ nm) unter dem Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen eines einwertigen Elektrolyts.

5.1.3. Agglomerationsstudien in Anwesenheit von Chlorid-Ionen

Obwohl die typische Ausbeute einer Lee-Meisel-Synthese hoch ist, verbleiben kleine Mengen an Silber-Ionen in der resultierenden Nanopartikelsuspension. Zudem konnte bereits gezeigt werden, dass Silber-Ionen, bedingt durch oxidative Vorgänge, aus kolloidalen Partikeln freigesetzt werden⁽²⁴⁾. Dies geschieht so lange, bis sich in der gesamten Lösung ein Gleichgewicht zwischen kolloidalen und ionischen Silber einstellt^(43,204). Da Chlorid-Ionen sehr häufig in der Umwelt und in biologischen Umgebungen vorkommen, wurde zusätzlich der Einfluss dieser Ionen auf das Agglomerationsverhalten der verwendeten Silbernanopartikel untersucht.

Da Silberchlorid eine Löslichkeit von $1,33 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ bei 298 K ⁽²⁰⁵⁾ besitzt, lassen sich bei dieser Temperatur nur $1,9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ in Wasser lösen. Somit wird nahezu jegliche Zugabe von Chlorid-Ionen zu einer kolloidalen Suspension citrat-stabilsierter Lee-Meisel-Kolloide zu einer Bildung von Silberchlorid und somit nicht nur zu einer ladungsgetriebenen Zerstörung der repulsiven Barriere führen. In Abbildung 58 sind die resultierenden

konzentrationsabhängigen Agglomerationsgeschwindigkeiten durch die Zugabe von Kaliumchlorid dargestellt.

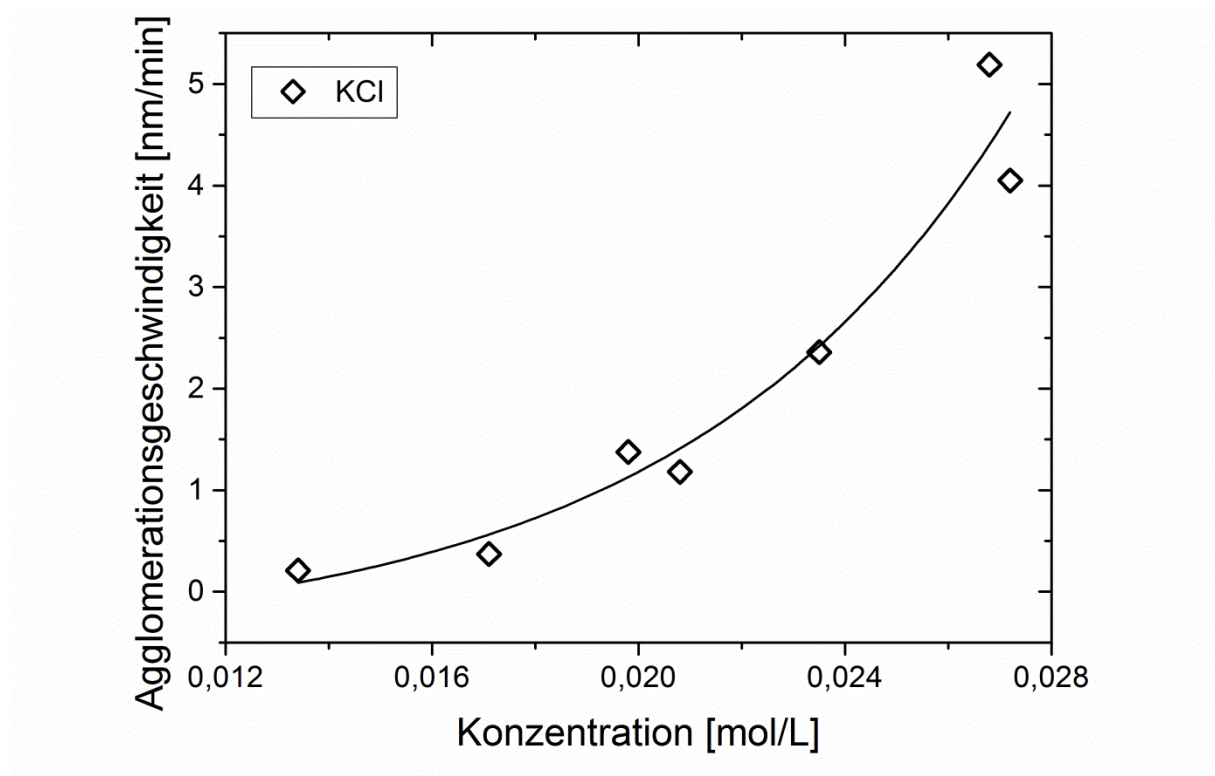


Abbildung 58: Resultierendes Partikelwachstum in $\text{nm}\cdot\text{min}^{-1}$ bedingt durch die Zugabe verschiedener Mengen Kaliumchlorid zu citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln⁽⁹⁶⁾.

Durch den Vergleich dieser Daten mit den Ergebnissen der Messungen des Kaliumnitrats und des Kaliumdihydrogenphosphats (Abbildung 55) wird ersichtlich, dass der Einfluss des Kaliumchlorids auf die Agglomerationsgeschwindigkeit bedeutend stärker ist als die der zwei anderen einwertigen Elektrolyte⁽⁹⁶⁾. Zudem konnte hier kein vergleichbarer linearer Anstieg zu Beginn der Agglomerationsmessung beobachtet werden. Dies lässt sich auf die kompetitive Situation der Bildung und Koagulation von Silberchlorid auf den einzelnen Partikeln bei einer gleichzeitigen Zerstörung der repulsiven Barriere zurückführen. Vermutlich wächst das sich aus der Lösung abscheidende Silberchlorid auf der Oberfläche der einzelnen Kolloide auf und führt so zu einem zusätzlichen Zuwachs der einzelnen Partikelgrößen.

Darüber hinaus eröffnen diese Messungen eine experimentelle Möglichkeit, zwischen einer ioneninduzierten Zerstörung der repulsiven Barriere und anderen agglomerationsinduzierenden Einflüssen zu unterscheiden. Dies kann durch den Vergleich des Partikelwachstums der einzelnen konzentrationsabhängigen Messungen klassifiziert werden⁽⁹⁶⁾.

5.1.4. Agglomerationsstudien mit mehrfach geladenen Ionen

Die Experimente der durch einfach geladene Ionen induzierten Agglomeration zeigten, wie äquivalent verschiedene Salze auf die Agglomerationsgeschwindigkeit von ladungsstabilisierte Kolloiden wirken. Im nächsten Schritt wurde zum einen der Einfluss zweifach geladener Elektrolyte untersucht und zum anderen wurde das Agglomerationsverhalten der kolloidalen Silberlösung unter Einsatz unterschiedlicher Kationen analysiert. Als ionische Komponenten wurden $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Fluka; p.a.) und K_2SO_4 (AppliChem; p.a.) eingesetzt. Die aus diesen Messungen resultierenden, deutlich unterschiedlichen, konzentrationsabhängigen Agglomerationsgeschwindigkeiten sind in der folgenden Abbildung dargestellt⁽⁹⁶⁾.

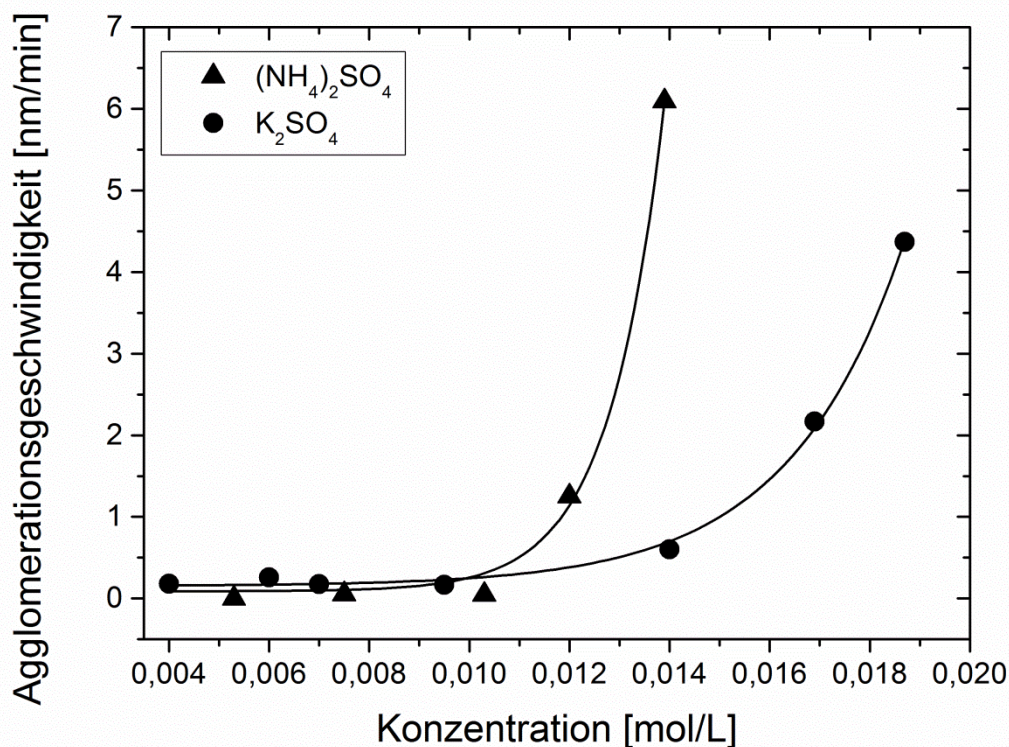


Abbildung 59: Abhängigkeiten der unterschiedlichen Agglomerationsgeschwindigkeiten des Silberkolloids mit verschiedenen Konzentrationen der zweiwertigen Elektrolyte Ammonium- und Natriumsulfat⁽⁹⁶⁾.

Vergleichend zu den Experimenten mit einfach geladenen Ionen lässt sich erkennen, dass beide Salze bei einer wesentlich geringeren Ionen-Konzentrationen zu einer Zerstörung der repulsiven Barriere führen. Dies war zu erwarten, da hier bedingt durch die Anwesenheit der

zweifach geladenen Ionen, ein höherer Ladungstransfer stattfindet. Ebenfalls lässt sich hier zunächst ein linearer Anstieg der Agglomerationsgeschwindigkeit beobachten. Bei höheren Ionenkonzentrationen zeigt sich ein exponentieller Verlauf. Hier findet wiederum der Wechsel von langsamer zu schneller Agglomeration statt. Interessanterweise lässt sich zudem erkennen, dass die repulsive Barriere unter Einsatz der Ammonium- und der Kaliumkationen bei leicht unterschiedlichen Ionenkonzentrationen destabilisiert wird. Dieser Unterschied war nicht zu erwarten, da das Sulfat-Anion potentiell Ladung zur positiv geladenen Oberfläche des Silberkolloids transportieren sollte. Das Kation hingegen sollten dabei eine untergeordnete Rolle spielen. Um dieses auftretende Phänomen erläutern zu können, wurde die Methode der Surface-Enhanced-Raman-Spectroscopy (SERS) (Kapitel 3.2.2.) herangezogen⁽⁹⁶⁾.

5.1.4.1 Quantifizierung des Einflusses von Sulfatanionen und Solvens (SERS)

Wasser, welches sich in einem flüssigen Aggregatzustand befindet, enthält viele verschiedene Wasserstoffbrückenbindungen mit unterschiedlichen Bindungswinkeln und -längen. Die Formationen dieser Wasserstoffbrückenbindungen können sich ausdehnen und somit die kovalenten OH-Bindungen schwächen. Hierdurch verändert sich das resultierende Schwingungsspektrum. Momentan wird dieser Effekt dahingehend interpretiert, dass die differenzierte Verteilung der Konfigurationen der Wasserstoffbrückenbindungen mit einer unterschiedlichen Verteilung der OH-Streckschwingungen einhergeht⁽²⁰⁶⁾. Dies wird in einem Schwingungsspektrum durch die Form der OH-Bande wiedergegeben^(96,207).

Wird die Nahordnung von Wasser in der flüssigen Phase betrachtet, so existieren tetraedrische Strukturen^(206,208-210). Diese Struktur ähnelt dem strukturellen Muster des festen Aggregatzustandes⁽²¹¹⁾ und wird sowohl durch die Temperatur als auch durch die Anwesenheit von gelösten Substanzen beeinflusst^(210,212-216). Die Temperatur bei allen hier vorgestellten Raman-Experimente wurde kontrolliert und konstant bei 20°C gehalten, um jeglichen temperaturabhängigen Einfluss auszuschließen⁽⁹⁶⁾.

Um zu klären, ob eine direkte Interaktion zwischen den in der Suspension vorhandenen Sulfat-Ionen und kolloidalen Silberoberfläche stattfindet, wurden SERS-Spektren einer Suspension von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln mit und ohne Sulfat-Ionen aufgenommen. Hierzu wurde ein konventionelles Raman-Mikroskop (Bruker; Senterra)

verwendet. Das Mikroskop besitzt einen voll motorisierten XY-Linearversteller, welcher sowohl die exakte Positionierung als auch das Scannen der Probe ermöglicht. Für die Aufnahme der Spektren wurde ein 20x Objektiv (Olympus, M PlanN, NA = 0,40) verwendet⁽⁹⁶⁾.

Die Raman-Spektren der OH-Banden wurden mittels eines Argon-Ionen-Lasers (Coherent; Innova 90 Plus) mit einer Wellenlänge von 488 nm und einer Leistung von 20 mW aufgenommen. Für jede Messung wurden jeweils 10 Co-Additionen mit einer Akquisitionszeit von 5 s durchgeführt⁽⁹⁶⁾. Zunächst wurden drei Spektren aufgenommen. Ein konventionelles Raman-Spektrum der Kaliumsulfat-Lösung, ein SERS-Spektrum von Tri-Natriumcitrat, welches für die Stabilisierung der Nanopartikelsuspension verwendet wurde, und ein SERS-Spektrum mit beiden Substanzen, d. h. mit den citrat-stabilisierten Silberkolloiden und dem in der Lösung vorhandenen Sulfat. Diese drei Spektren sind in der folgenden Abbildung dargestellt⁽⁹⁶⁾.

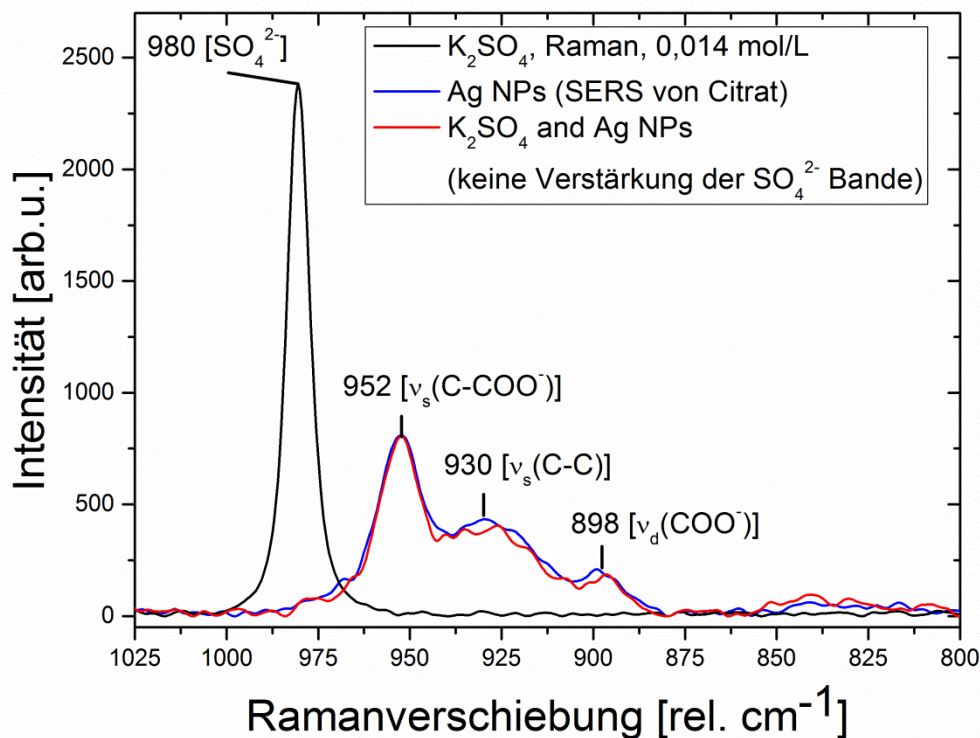


Abbildung 60: Konventionelles Raman-Spektrum einer Kaliumsulfat-Lösung (schwarz), SERS-Spektrum von Citrat auf der nanopartikulären Silberoberfläche (blau) und das resultierende SERS-Spektrum der citrat-stabilisierten Silbernanopartikel in Anwesenheit von 0,014 mol·L⁻¹ Kaliumsulfat (rot).

Aus Abbildung 60 wird ersichtlich, dass sich die in der Regel starke Sulfatbande in einem konventionellen Raman-Spektrum sehr gut erkennen lässt^(101,217). Das SERS-Spektrum der

Experimente [Silbernanopartikel + Citrat] zeigt die typischen Banden adsorbierter Citratmoleküle⁽²¹⁸⁻²²²⁾. Bemerkenswert ist allerdings, dass keine Sulfatbande in dem aufgenommenen SERS-Spektrum der mit Kaliumsulfat gemischten nanopartikulären Lösung zu beobachten ist. Falls das Sulfat auf den Oberflächen des untersuchten Silberkolloids adsorbiert, sollten die Signale des Sulfates verstärkt werden^(218,223) und müssten demnach deutlich im Spektrum erscheinen. Da dies nicht der Fall ist, lässt sich aus dieser Messung schließen, dass kein gelöstes Sulfat auf der Silbernanopartikeloberfläche adsorbiert. Bei Betrachtung des roten Spektrums in Abbildung 60, welche die Messung der gemischten Lösung darstellt, lässt sich zudem deutlich erkennen, dass sich nur das adsorbierte Citrat auf der nanopartikulären Oberfläche befindet. Diese Messung zeigt, dass keine direkten Interaktionen der Sulfat-Ionen mit der Oberfläche stattfinden und dies somit kein Beleg für die beobachtete zunehmende Agglomerationsgeschwindigkeit bei zunehmender Salzkonzentration darstellt⁽⁹⁶⁾.

Eine mögliche Erklärung für diese Tatsache lässt sich in der Betrachtung des Einflusses der verschiedenen Kationen auf die Wasserstoffbrückenbindungen finden. Um den unterschiedlichen Einfluss beider Salze auf die kolloidale Lösung zu quantifizieren, wurde im nächsten Schritt der Einfluss unterschiedlicher Elektrolytkonzentrationen auf die symmetrischen OH-Streckschwingung des Raman-Spektrums untersucht⁽⁹⁶⁾.

Abbildung 61 zeigt die OH-Raman-Banden von reinem Wasser und von Wasser mit jeweils unterschiedlichen Konzentrationen von Ammonium- und Kaliumsulfat. Alle Spektren wurden auf die gleiche Peakhöhe (3422 cm^{-1}) normiert.

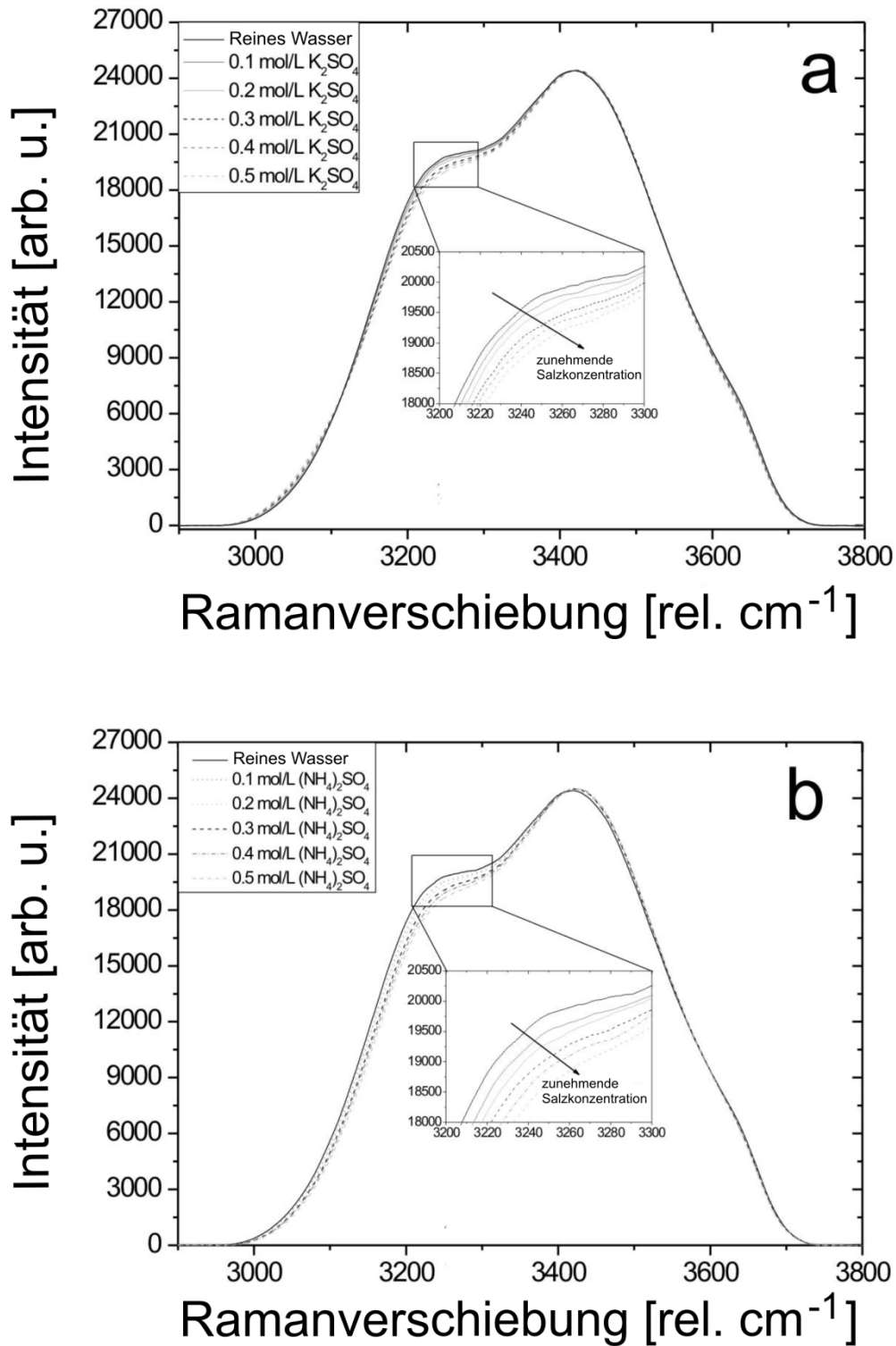


Abbildung 61: Die OH-Raman-Bande für reines Wasser und verschiedener Konzentrationen von Kaliumsulfat (a) und Ammoniumsulfat (b). Alle Spektren wurden auf die gleiche Peakhöhe (3422 cm^{-1}) normiert⁽⁹⁶⁾.

Für die Bestimmung der strukturellen Informationen von Wasser ist die breite Bande zwischen 3000 cm^{-1} und 3800 cm^{-1} am charakteristischsten. Die Schwingungsmoden, welche in diesem Teil des Raman-Spektrums beobachtet werden, resultieren aus den vorhandenen OH-Streckschwingungen⁽²⁰⁹⁾. Der Vergleich der unterschiedlichen Beiträge der individuellen Frequenzen zu dem gesamten Signal liefert Informationen über die Struktur der Wasserstoffbrückenbindung^(96,209,224,225). Diese Methode besitzt allerdings Grenzen bezüglich der Bestimmung der Wasserstruktur. Sie erlaubt jedoch den relativen Vergleich der Einflüsse von verschiedenen Elektrolyten auf die Struktur der Wasserstoffbrückenbindung.

Es wurde eine vergleichende Annäherung der relativen Beiträge bei verschiedenen Wellenzahlen angewandt⁽²⁰⁶⁾, um so die verschiedenen Einflüsse des K_2SO_4 und des $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ auf das Netzwerk der Wasserstoffbrückenbindungen zu untersuchen⁽⁹⁶⁾. Hierzu wurden die Intensitätsverhältnisse der Wellenzahlen 3422 cm^{-1} und 3260 cm^{-1} für reines Wasser und nach Zusatz verschiedener Elektrolytkonzentrationen bestimmt. In der folgenden Abbildung sind die spektroskopisch ermittelten Verhältnisse der wässrigen Ammonium- und Kaliumsulfatlösungen in Abhängigkeit der Konzentration aufgetragen⁽⁹⁶⁾.

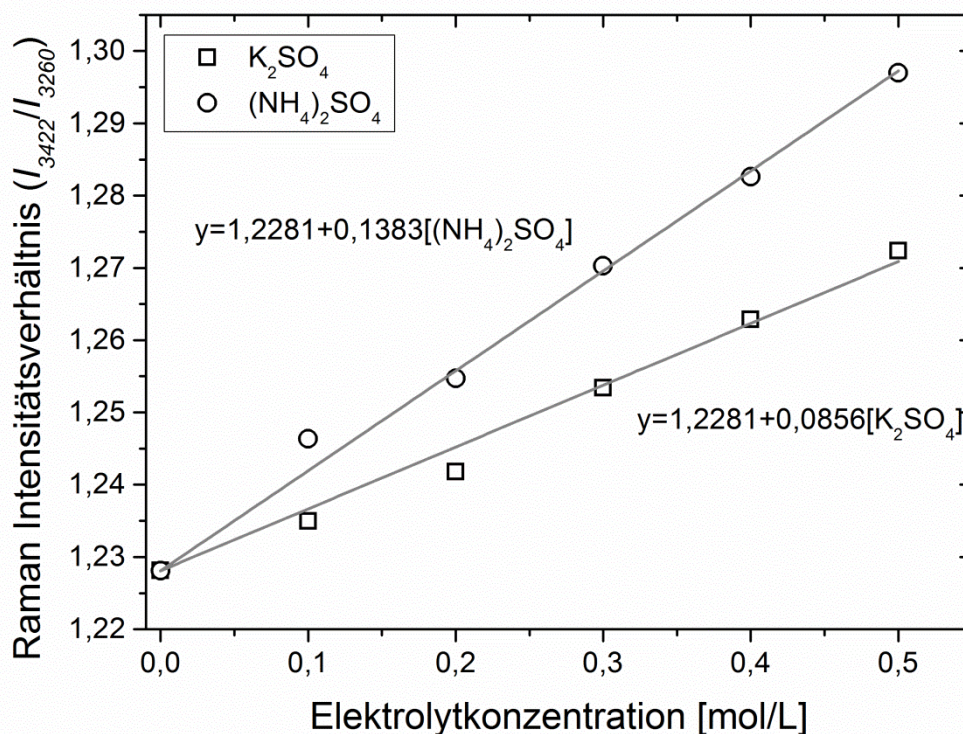


Abbildung 62: Abhängigkeit des Raman Intensitätsverhältnisses (3422 cm^{-1} und 3260 cm^{-1}) bei unterschiedlich konzentrierten Kalium- und Ammoniumsulfatlösungen⁽⁹⁶⁾.

Die Interpretation dieser Daten zeigt deutlich die stärkeren Auswirkungen des Ammoniumsulfats auf die vorhandene Wasserstruktur. Das Kaliumsulfat besitzt einen wesentlich schwächeren Einfluss. Dieses Ergebnis liefert einen ausreichenden Beleg für die unterschiedlichen Einflüsse dieser beiden Salze in Bezug auf die Destabilisierung der repulsiven Barriere der citrat-stabilisierten Silbernanopartikel. Die repulsive Barriere der Nanopartikel besteht neben den Liganden (auf der Oberfläche gebundenen Citrat-Molekülen) aus einer Solvathülle (hauptsächlich Wassermoleküle). Beide Salze konkurrieren mit dieser Solvathülle um die dort vorhandenen Wassermoleküle. Abbildung 62 zeigt, dass das Ammoniumsulfat einen wesentlich stärkeren Einfluss auf die Wassermoleküle der bestehenden Solvathülle besitzt. Dies führt zu einer stärkeren Schwächung der repulsiven Barriere als im Fall des Kaliumsulfats⁽⁹⁶⁾.

5.1.5. Zusammenfassung der Ergebnisse der Agglomerationsstudien

Der Einfluss verschiedener ionischer Komponenten auf das Agglomerationsverhalten von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln ist in folgender Abbildung zusammenfassend dargestellt:

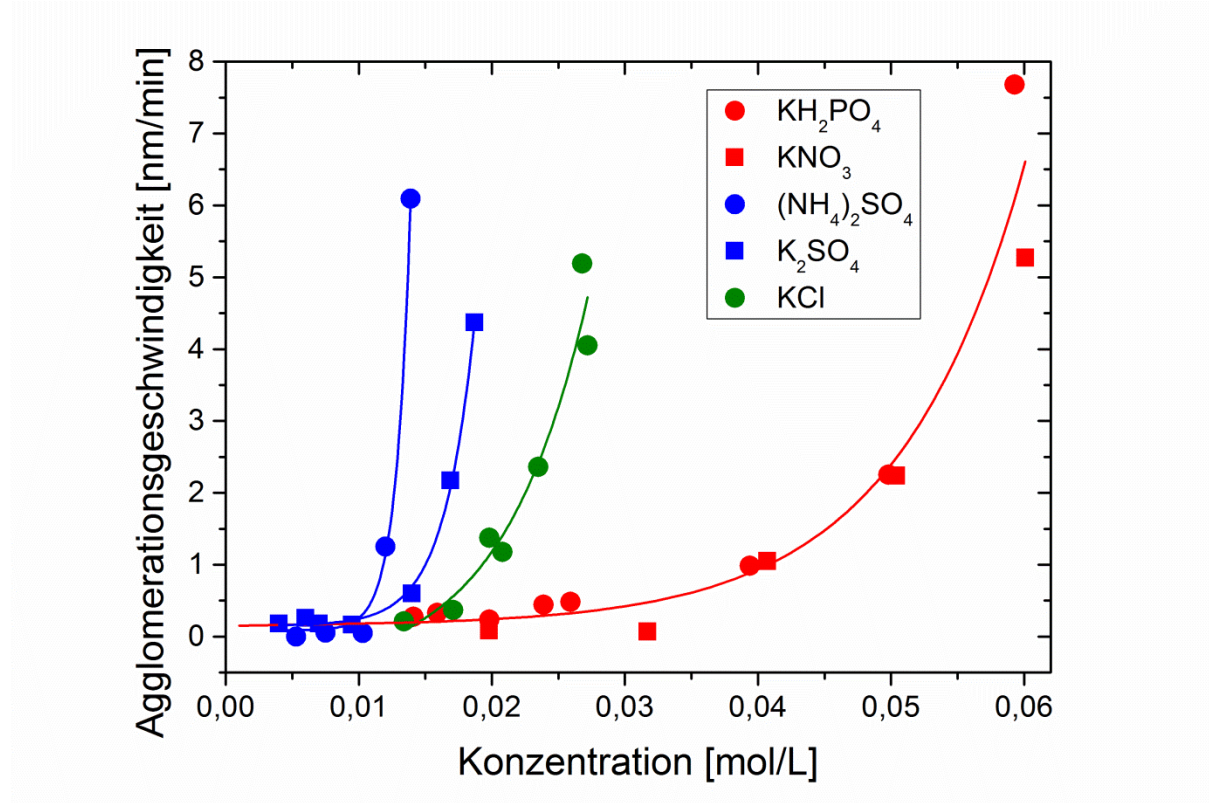


Abbildung 63: Ergebnisse der Agglomerationsstudien von citrat-stabilisierter Silbernanopartikel mit unterschiedlichen ein- und zweiwertigen Elektrolyten⁽⁹⁶⁾.

Die Messergebnisse zeigen, dass die Destabilisierung der repulsiven Barriere von verschiedenen Faktoren abhängt. Den stärksten Einfluss auf die Destabilisierung besitzt, wie erwartet, die Ladung des Anions. Die Ergebnisse der Messungen mit Kaliumnitrat und Kaliumdihydrogenphosphat zeigten ähnliche Auswirkungen auf die Agglomerationskinetik von Silbernanopartikeln. Der Einsatz der doppelt geladenen Anionen (Ammonium- und Kaliumsulfat) zeigt, wie erwartet, einen wesentlich stärkeren Einfluss.

Des Weiteren gaben SERS-Messungen einen Hinweis darauf, dass keine direkte Interaktion zwischen dem Sulfat-Ion und der Partikeloberfläche stattfindet. Auch spielt der Einfluss des Kations auf die Wasserstruktur eine entscheidende Rolle. Dies wird aus den Messungen mit Ammonium- und Kaliumsulfat ersichtlich. Hier zeigten die erhaltenen Raman-Daten, dass das Ammonium-Ion einen wesentlich stärkeren Einfluss auf die Struktur der vorhandenen Wasserstoffbrückenbindungen besitzt als das Kalium-Ion. Dies führt dazu, dass Wassermoleküle effizienter aus der vorhandenen Solvathülle entfernt werden⁽⁹⁶⁾.

Zudem konnte im Falle der Destabilisierung mit Kaliumchlorid gezeigt werden, dass der Einfluss der Ladung nicht ausreicht, um die komplette Auswirkung auf das Agglomerationsverhalten zu erläutern. Die Bildung und Abscheidung von Silberchlorid und die dadurch entstehende Konkurrenz zwischen Nukleation und Aggregation, bietet hier eine Erklärung des beobachteten Effekts. Dies unterstreicht u.a. die Wichtigkeit der sorgfältigen Charakterisierung des umgebenden Mediums bei jeder Studie an nanopartikulären Suspensionen⁽⁹⁶⁾.

Die Aufklärung der unterschiedlichen Einflüsse von äquidistant geladenen aber chemisch unterschiedlichen Salzen auf das Agglomerationsverhalten von Nanopartikeln liefert ein verbessertes Verständnis des Agglomerationsprozesses. Die theoretische Beschreibung ignoriert diese Einflüsse. Dort, wo die präzise Kenntnis und Kontrolle des Agglomerationszustandes wichtig ist, ist das Wissen über molekulare Faktoren, welche sich auf die Kinetik der Agglomeration auswirken, von vorrangigem Interesse. Um genaue Daten über diese Effekte zu erhalten, bedarf es der Durchführung mehrerer Studien mit einer größeren Variabilität an ionischen Komponenten und unterschiedlichen Nanopartikelspezies⁽⁹⁶⁾.

5.2. Modellstudien zur Wechselwirkung von NPs mit Bestandteilen von Umweltkompartimenten

Brauchwasser enthält nicht ausschließlich ionische sondern auch andere Komponenten. So lassen sich in aquatischen Systemen zudem Biomoleküle, wie beispielsweise Proteine, aber auch Huminsäuren und Fulvinsäuren finden, welche durch den Abbau von pflanzlichen und tierischen Materialien entstehen^(226,227). Um neue methodische Ansätze zu entwickeln, die eine genauere Charakterisierung der Wechselwirkungen von Nanopartikeln mit Biomolekülen ermöglichen, wurde zunächst in einer weiteren Messreihe das Agglomerationsverhalten citrat-stabilisierter Silbernanopartikel mit ionischen Komponenten unter dem Einfluss des sehr gut erforschten und exemplarisch gewählten Protein Humanes Serum Albumin (HSA) durchgeführt. Die in diesem Abschnitt vorgestellten Daten wurden im Journal „Langmuir“ veröffentlicht⁽⁷⁴⁾.

5.2.1. Einfluss der Protein-Corona auf die Stabilität von Silbernanopartikeln

Sobald Nanopartikel in ein aquatisches oder biologisches System gelangen, welches Proteine oder andere Biomoleküle enthält, konkurrieren diese Moleküle um die Oberflächen der einzelnen Partikel. Dies führt zu der Bildung einer sogenannten dynamischen Protein-Corona, welche nicht nur die Stabilität der Kolloide ändern kann, sondern auch die biologischen Wechselwirkungen der Kolloide bestimmt^(128,228,229). Diese Wechselwirkungen bestimmen zudem die Mobilität der Partikel, sowohl in natürlichen Kompartimenten als auch in biologischen Organismen⁽²³⁰⁻²³²⁾. Ebenso vermögen Nanopartikel die Proteinkonformationen stark zu verändern⁽⁴³⁾. Dies kann letztendlich eine Denaturierung des Proteins auslösen, was zum Verlust der biologischen Aktivität des Proteins führen kann^(80,233). Die genauen Ursachen und die Details des Mechanismus der Proteinentfaltung auf nanopartikulären Oberflächen sind bis jetzt nicht hinreichend aufgeklärt^(74,234-237).

Auch die physikochemischen Eigenschaften von Nanopartikeln werden durch die auf der Oberfläche adsorbierten Moleküle mitbestimmt^(234,238,239). Diese Eigenschaften bestimmen toxikologische sowie weitere Effekte der biologischen Wechselwirkung^(74,228). Zudem beeinflussen die auf den Partikeln adsorbierten Proteine den Transport von Nanopartikeln durch Membranen, wodurch sie auch Areale erreichen können, welche sie normalerweise

ohne „Protein-Corona“ nicht erreichen würden^(76,240). Die genaue Kenntnis des Verhaltens der einzelnen Partikel im Bezug zu biologischen Systemen ist deshalb von großer Relevanz um die Expositionswege und die Toxizität von partikulären Komponenten zu evaluieren.

Demnach ist es von großer Bedeutung, ein fundamentales Verständnis für die Bindungseigenschaften von Proteinen und Molekülen auf nanopartikulären Oberfläche zu schaffen⁽²⁴⁰⁾. Um die Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Komponenten in aquatischen oder biologischen Systemen besser zu verstehen, wurde im Rahmen dieser Arbeit die Wechselwirkung von nanopartikulären proteinbelegten Oberflächen mit ionischen Komponenten untersucht⁽⁷⁴⁾.

5.2.1.1. Experimentelle Durchführung

Um den Verlust von HSA-Molekülen durch Adsorption auf den Gefäßwandungen zu minimieren, wurden alle Proteinlösungen in speziellen schwachbindenden Mikrogefäßen (Eppendorf, Protein LoBind® Tubes) hergestellt. Bei der Benutzung von Standardgefäßen zeigen sich häufig signifikante Verluste der Proteinkonzentrationen⁽²⁴¹⁾. Im Anschluss an die Partikelsynthese nach dem Lee-Meisel-Prinzip (Kapitel 4.1.1) wurden die in dieser Studie verwendeten Nanopartikel mit unterschiedlichen Methoden charakterisiert⁽⁷⁴⁾.

Die Aufnahme und Auswertung der HR-TEM Bilder wurden von der Arbeitsgruppe von Professor Wolfgang Peukert (Universität Erlangen-Nürnberg) durchgeführt. Hierzu wurde ein Transmissionselektronenmikroskop (Philips; CM300 UT) verwendet. Die Probenpräparation erfolgte durch Aufbringung der kolloidalen Silbersuspension (10 µl) auf einen amorphen, durch ein Kupfergitter gestützten Kohlenstofffilm (Plano GmbH). Die erhaltenen Bilder enthielten in etwa 50 Partikel und wurden mit der Software ImagJ (National Institute of Health, USA) ausgewertet. Für jede Partikelgrößenverteilung wurden die Größen von circa 200 individuellen Partikeln ausgewertet⁽⁷⁴⁾.

Da sich zu dem Zeitpunkt der Messung der Dynamic-Particle-Sizer noch in der Entwicklungsphase befand, wurden die hier vorgestellten Messungen der dynamischen Lichtstreuung von der Arbeitsgruppe von Professor Matthias Eppe (Universität Duisburg-Essen) durchgeführt. Hierzu wurde eine DLS-Apparatur (Malvern; NanoZS Instruments)

eingesetzt, welche mit einem im roten Bereich emittierenden Laser ($\lambda = 633 \text{ nm}$) ausgestattet ist⁽⁷⁴⁾.

Die Partikelgrößenbestimmung anhand der Beobachtung der thermischen Trajektionspfade wurde mit dem entwickelten BMNS-System durchgeführt. Die erhaltenen gemittelten Durchmesser sowie die gemittelten hydrodynamischen Durchmesser sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

	BMNS	DLS	TEM
Durchmesser [nm]	36 ± 3	42 ± 3	32 ± 3

Tabelle 4: Ermittelte hydrodynamische Partikeldurchmesser der, für die Studien zum Einfluß der Protein-Corona auf die Stabilität von Nanopartikeln verwendeten Lee-Meisel Kolloide⁽⁷⁴⁾.

Da der Einfluss ionischer Komponenten in der vorangegangenen Messreihe (Kapitel 5.1) präzise charakterisiert wurde, wurden die zuvor gewonnenen Erkenntnisse nun für die Bestimmung der Protein-Nanopartikel Wechselwirkung angewandt. In diesem neu entwickelten Verfahren zur Bestimmung der Bindungsaffinität von Proteinen auf nanopartikulären Oberflächen wurde zunächst die ermittelte Kaliumsulfatkonzentration gewählt, bei der die repulsive Barriere der Nanopartikel komplett neutralisiert wurde.

Die Silbernanopartikel wurden zuvor mit unterschiedlich konzentrierten HSA-Lösungen inkubiert, um anschließend die Verringerung der Kollisionseffizienz, welche durch $k_a/k_{a,max}$ gegeben ist, zu erfassen. Die Reduktion der Agglomerationsgeschwindigkeit lässt somit Rückschlüsse auf die Bildung der Protein-Corona zu. Abschließend wurde ein Modell entwickelt, mit dessen Hilfe sich die Dissoziationskonstante K_D bestimmen lässt⁽⁷⁴⁾.

Bei allen Messungen wurde die Menge der Silberkolloide konstant bei $2,86 \cdot 10^{11} \text{ NPs} \cdot \text{mL}^{-1}$ gehalten. Diese wurden mit unterschiedlichen Mengen an HSA-Molekülen versetzt. Die Konzentration der Proteine wurde dabei so gewählt, dass sie mit einer Proteinmonolage auf der nanopartikulären Oberfläche korreliert. Die Inkubation der resultierenden Nanopartikel-Protein-Gemische wurde für 4 Stunden bei Raumtemperatur durchgeführt. Im Anschluss an die Inkubationsphase wurde eine definierte Menge Kaliumsulfat ($0,0154 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) hinzugegeben, um die Agglomeration zu initiieren⁽⁷⁴⁾. Die gewählte Elektrolytkonzentration

repräsentiert die Destabilisierung der repulsiven Barriere der hier verwendeten citrat-stabilisierten Silbernanopartikel.

Es ist bekannt, dass HSA ionische Komponenten bindet⁽²⁴²⁾. Die Salzkonzentrationen, die in diesen Experimenten verwendet wurden, übersteigt allerdings die Bindungskapazität der HSA-Moleküle um mehrere Größenordnungen, so dass die Anbindung ionischer Komponenten an das HSA-Molekül hierbei vernachlässigt werden kann. Der zeitabhängige Zuwachs der hydrodynamischen Durchmesser wurde dann in Zeitintervallen von 2 Minuten über einen Zeitraum von 1 bis 2 Stunden beobachtet. Die resultierenden Kollisionseffizienzen wurden anschließend, wie in Kapitel 3.4.3. beschrieben, bestimmt⁽⁷⁴⁾.

5.2.1.2. Bestimmung einer Monolage HSA auf der partikulären Oberfläche

Um die Menge der HSA-Moleküle zu bestimmen, welche für eine Monolage auf der partikulären Oberfläche benötigt wird, wurde die gesamte in der untersuchten Lösung befindliche Nanopartikeloberfläche bestimmt und durch die gut bekannte Kontaktfläche eines HSA-Moleküls dividiert. Wird die Darstellung eines HSA-Moleküls vereinfacht, so kann es als gleichseitiges dreieckiges Prisma mit einer Kantenlänge von ~ 8 nm und einer Tiefe von ~ 3 nm angesehen werden^(127,243,244). Dies ergibt bei Betrachtung der potentiellen Bindungsfläche einen Kontaktfläche von ~ 32 nm²⁽²⁴³⁾. Die resultierende Nanopartikeloberfläche wurde anhand des folgenden mit dem BMNS gemessenen Histogramms bestimmt.

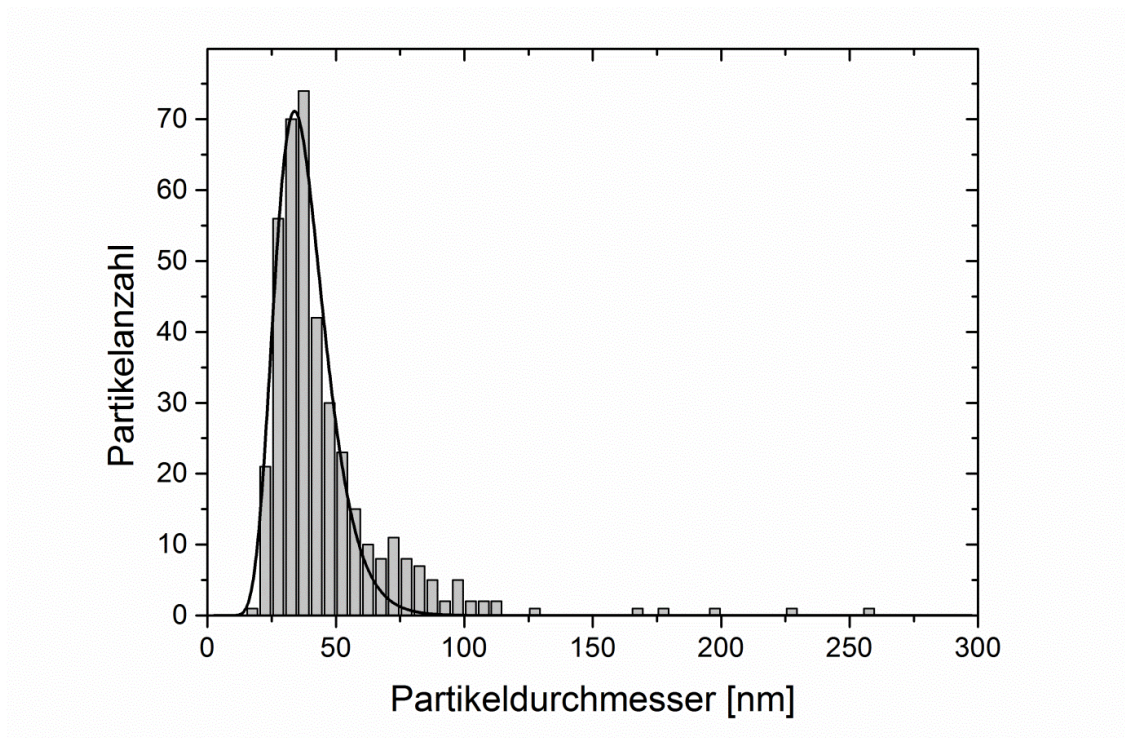


Abbildung 64: Mit dem BMNS-System gemessenes Histogramm der verwendeten citrat-stabilisierten Silbernanopartikel (Lee-Meisel-Methode) zur Ermittlung der effektiven Oberflächen der untersuchten kolloidalen Suspension⁽⁷⁴⁾.

Hierzu wurde die Oberfläche aller Nanopartikel aus der Größenverteilung bestimmt und durch die totale Anzahl der im Histogramm aufgezeigten Nanopartikel dividiert. Mit der Annahme, dass alle Partikel eine sphärische Form besitzen, ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel eine Oberfläche von 8765 nm² pro Nanopartikel, was mit einer Partikelgröße von 53 nm korreliert. Anhand dieser Rechnungen folgt, dass 274 HSA-Moleküle pro Nanopartikel für die Bildung einer Monolage benötigt werden⁽⁷⁴⁾.

5.2.1.3. Verringerung der Kollisionseffizienz durch die Bildung der Protein-Corona

Die Ergebnisse der einzelnen Messungen zur abhängigen Kollisionseffizienz im Bezug zur Konzentration der HSA-Moleküle sind in der folgenden Abbildung zusammenfassend dargestellt:

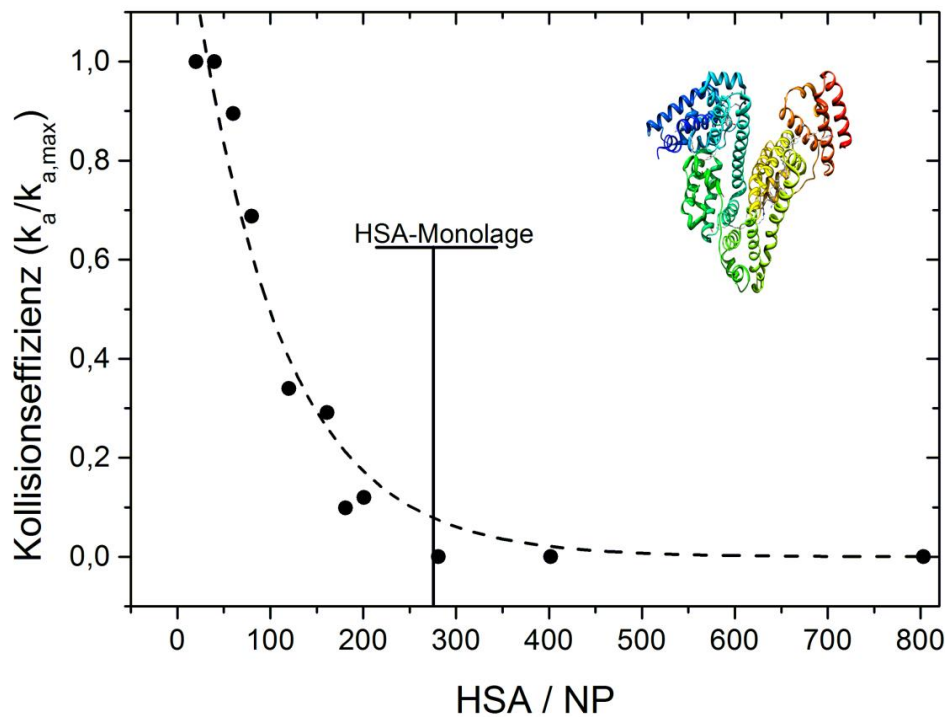


Abbildung 65: Resultierende Kollisionseffizienzen als Funktion des HSA/NP Verhältnisses (Die gestrichelte Line dient zur besseren Verdeutlichung des Verlaufs)⁽⁷⁴⁾.

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Kollisionseffizienz der salzinduzierte Agglomeration mit zunehmender Proteinkonzentration abnimmt. Dies geschieht so lange, bis die Kollisionseffizienz null erreicht und das untersuchte Kolloid sogar in Anwesenheit des destabilisierenden Elektrolyten stabil bleibt. Bemerkenswerterweise findet die komplette Stabilisierung in etwa bei der Bildung einer Monolage HSA-Moleküle auf der nanopartikulären Oberfläche statt. Dies zeigt, dass die Bildung der Protein-Corona zu einer sterischen oder elektrosterischen Stabilisation der einzelnen Partikel führt. Dieses Ergebnis korreliert gut mit dem Befund, dass HSA unter den gegebenen Bedingungen als Monomer vorliegt⁽²⁴⁵⁾. Auch unter physiologischen Bedingungen würde HSA sogar bei einer Konzentration von 35 - 50 g·L⁻¹ als Monomer vorliegen^(74,245).

5.2.2. Entwicklung eines Modells zur Bestimmung der Bindungsaffinität

Um nun die Bindungsaffinität von Proteinen auf nanopartikulären Oberflächen zu bestimmen, wurde ein vollkommen neuartiges Modell entwickelt. Hierzu wurden folgende Annahmen getätigt:

- Eine Agglomeration zweier Partikel findet nur dann statt, wenn beide metallische Seiten des kollidierenden destabilisierten Kolloids keine, auf der Oberfläche adsorbierten, Moleküle besitzen (Dies spiegelt sich in der Beobachtung der kompletten Stabilisierung der nanopartikulären Suspension durch die Ausbildung einer intakten HSA-Monolage wieder).
- Weder Kollision zwischen zwei proteinbedeckten Oberflächen, noch die Kollision einer proteinbedeckten und einer unbedeckten Oberfläche führt zu der Bildung eines Agglomerats⁽⁷⁴⁾.

Bei der Betrachtung von Abbildung 65 lässt sich erkennen, dass der Punkt, an dem sich die Kollisionseffizienz um ein Viertel verringert hat, mit einem Bedeckungsgrad von etwa einer halben Monolage einhergeht.

Der Bedeckungsgrad θ_s der Oberfläche ergibt sich nach folgender Formel⁽¹¹⁵⁾:

$$\frac{A_{bedeckt}}{A_{bedeckt} + A_{unbedeckt}} = \theta_s \quad (5.2.1)$$

Der nicht bedeckte Teil der Oberfläche lässt sich dann durch folgende Gleichung beschreiben⁽¹¹⁵⁾:

$$\frac{A_{unbedeckt}}{A_{bedeckt} + A_{unbedeckt}} = 1 - \theta_s \quad (5.3.2)$$

Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei leere Flächen aufeinandertreffen ($W_{(u/u)}$), wird durch folgende Gleichung wiedergegeben:

$$W_{(u/u)} = (1 - \theta_s)^2 \quad (5.3.3)$$

Mit den zuvor gemachten Annahmen und Gleichung (5.3.3) lässt sich der Bedeckungsgrad der proteinbedeckten Oberfläche mit folgender Gleichung aus der gemessenen Kollisionseffizienz bestimmen:

$$\frac{k_a}{k_{a,max}} = W_{(u/u)} = (1 - \theta_s)^2 \quad (5.3.4)$$

Die folgende Abbildung zeigt schematisch, wie sich der Bedeckungsgrad mit sinkender Kollisionseffizienz verändert:

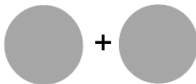







	Bedeckung der Oberfläche (θ_s)	Kollisions- effizienz ($k_a/k_{a,max}$)
 + 	0 %	100 %
 + 	25 %	56.25 %
 + 	50 %	25 %
 + 	100 %	0 %

Abbildung 66: Schematische Darstellung des entwickelten Modells zur Evaluierung des Bedeckungsgrades (Protein-Corona) anhand der verringerten Kollisionseffizienz von salzinduzierten Agglomerationsreaktionen.

Diese entwickelte Methode kann in einem weiteren Schritt zur Evaluierung der Bindungsaffinität von Proteinen verwendet werden. Um Bindungsaffinitäten in biologischen Systemen zu bestimmen, wird häufig eine „Hill-Anpassung“^(246,247) verwendet. Hierfür wird im nächsten Schritt die zuvor ermittelte Oberflächenbedeckung gegen die logarithmische Proteinkonzentration aufgetragen⁽²⁴⁸⁻²⁵⁰⁾.

Dies wird durch folgende Gleichung beschrieben^(74,243):

$$\theta_s = \theta_{s,max} \frac{I}{I + \left(\frac{K_D}{c_{[HSA]}} \right)^{n_{Hill}}} \quad (5.3.5)$$

Gleichung (5.3.5) beschreibt die Abhängigkeit der Oberflächenbedeckung θ_s von der Proteinkonzentration $c_{[HSA]}$, wobei $\theta_{s,max}$ die maximale Oberflächenbedeckung, n_{Hill} den Hill-Koeffizienten und K_D die Dissoziationskonstante des Proteins in Bezug zur nanopartikulären Oberfläche beschreibt.

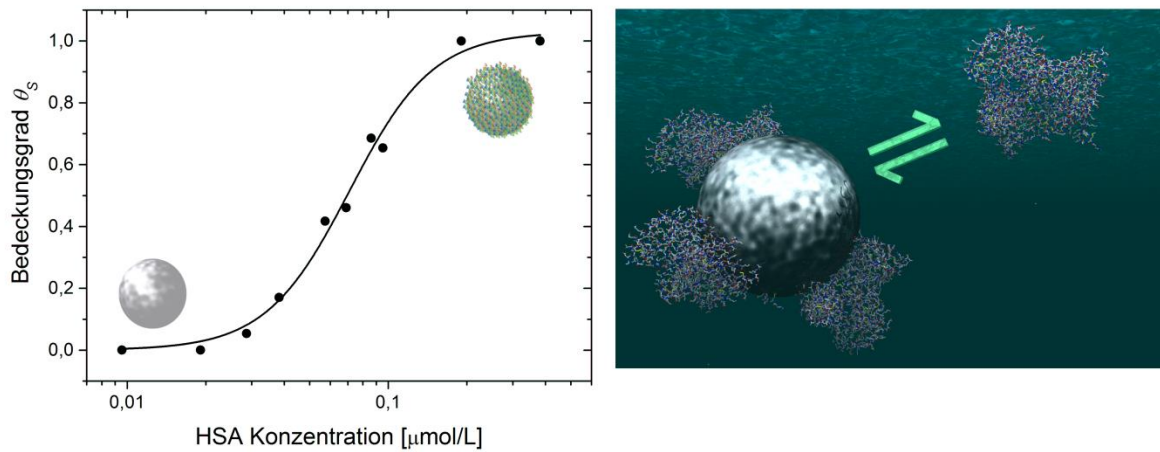


Abbildung 67: Die Hill-Anpassung⁽⁷⁴⁾ der Auftragung des ermittelten Bedeckungsgrads gegen die vorhandene HSA-Konzentration lieferte eine Dissoziationskonstante von $K_D = 71 \pm 17 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Durch Anwendung der Methode nach Hill^(246,247) konnte eine Dissoziationskonstante von $K_D = 71 \pm 17 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ erhalten werden. Vorangegangene Studien mit anderen Methoden an metallischen Nanopartikeln zeigten ebenfalls K_D -Werte im unteren nanomolaren Bereich^(43,74,172,186). Häufig wird der Hill-Koeffizient n_{Hill} zur Interpretation der Bindungskoopertivität bei Oberflächenadsorptionsprozessen verwendet^(127,249,251). Der aus diesen Messungen erhaltene Hill-Koeffizient besitzt einen Wert von $n_{Hill} = 2.71$, was auf ein kooperatives Bindungsverhalten hinweist⁽¹²⁷⁾. Besäße der Hill-Koeffizient einen Wert < 1 , würde dies einen Hinweis auf ein anti-kooperatives Bindungsverhalten liefern. Bei einer kooperativen Bindung begünstigt die Anbindung des ersten Proteins auf der Oberfläche die Anlagerung weiterer Proteine⁽²⁴⁹⁾. Obwohl hierbei, aufgrund der sterischen Hinderung der einzelnen Proteine untereinander, eher ein anti-kooperatives Bindungsverhalten zu vermuten

wäre, zeigten sich in anderen Studien ebenfalls eine kooperative Proteinadsorption⁽¹²⁷⁾. Dies lässt sich vermutlich auf eine stabilisierende Interaktion zwischen den benachbarten Protein-Molekülen zurückführen⁽⁷⁴⁾.

Durch die so erhaltene Dissoziationskonstante kann nun im nächsten Schritt die Änderung der freien Enthalpie oder auch Gibbs-Energie nach folgender Gleichung berechnet werden⁽¹¹⁵⁾:

$$\Delta G = -RT \ln K_D \quad (5.3.6)$$

Hierbei beschreibt R die allgemeine Gaskonstante und T die absolute Temperatur. Mit der erhaltenen Dissoziationskonstante $K_D = 71 \pm 17 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, ergibt sich unter den gegebenen Bedingungen ein Änderung der freien Enthalpie von $40 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Dieselbe Studie wurde zeitgleich mit der Methode der Circular-Dichroism-Spektroskopie (CD) durchgeführt. Hierbei wird rechts- und linksdrehendes zirkular polarisiertes Licht erzeugt und durch die zu untersuchende Probe geführt. Dadurch, dass zirkular polarisiertes Licht unterschiedlich stark von den Enantiomerenanteilen der Probe absorbiert wird, lassen sich Rückschlüsse auf die Chiralität der untersuchten Moleküle schließen. Im Falle der CD-Spektroskopie können die Abnahmen der unterschiedlichen sekundär Strukturanteile der Proteinmoleküle während der Adsorption auf der nanopartikulären Oberfläche bestimmt werden^(74,252). Im Gegensatz zu der BMNS-Methode, welche das System von der partikulären Seite aus betrachtet, charakterisiert die CD-Methode das System über die Veränderung der Proteinkonformationen. Diese Methode ergab für das beobachtete HSA-Nanopartikel-System einen Wert von $33 \pm 11 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, was mit einer Änderung der freien Enthalpie von $47 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ einhergeht⁽⁷⁴⁾. Dies demonstriert eindrucksvoll, dass die erhaltenen Dissoziationskonstante und die daraus berechneten freien Enthalpien gute Übereinstimmungen bieten, obwohl sie mit zwei vollkommen unterschiedlichen Methoden erfasst wurden.

Die erhaltenen ΔG -Werte zeigen zudem, dass das Gleichgewicht stark auf der Seite der HSA-Adsorption auf der nanopartikulären Silberoberfläche liegt. Sobald die umgebende Proteinkonzentration den K_D -Wert übersteigt, wird keine spontane Protein-Desorption mehr erfolgen. Obwohl dieser Wert für die Adsorption eines größeren Moleküls klein erscheint, lässt sich dieser durch die Bilanzierung der Bindungsbildungen und -brechungen und den daraus folgenden enthalpischen und entropischen Änderungen, erläutern⁽⁷⁴⁾.

Für den Desorptionsprozess sind sowohl das Vorzeichen als auch die Größenordnung des ΔG -Wertes durch Änderungen der Enthalpie ΔH und der Entropie ΔS bestimmt. Dies kann durch die Gibbs-Gleichung beschrieben werden⁽¹¹⁵⁾:

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \quad (5.3.7)$$

Den größten Einfluss auf die Änderung der Enthalpie während der Adsorptionsprozesses besitzt die freiwerdende Bindungsenergie. Diese resultiert aus der Bindungsbildung zwischen Protein und Nanopartikel ($\Delta H < 0$). Aufgrund der zudem vermutlich vorhandenen Desorption würden zwar Bindungen zwischen der nanopartikulären Oberfläche und dem Protein gebrochen, allerdings würden dann auch zusätzlich neue Bindungen mit den umgebenden Wassermolekülen oder möglicherweise mit anderen Teilen desselben Moleküls gebildet. Der allgemeine Effekt auf die Terme ΔH und ΔG kann zudem signifikant durch die Ausbildung von Metall-Schwefel-Bindungen zwischen Proteinen und metallischen Oberflächen erhöht werden^(74,172). Die Entropie wird während des Adsorptionsprozesses durch den Verlust von rotatorischen und translatorischen Freiheitsgraden verringert. Eine Entropieerhöhung wird hingegen durch die Bildung einer aus Wassermolekülen bestehende Solvathülle hervorgerufen.

Zudem ergaben sich aus den CD-spektroskopischen Messungen Hinweise darauf, dass das Protein auf der nanopartikulären Oberfläche denaturiert⁽⁸¹⁾. Wird nun die komplette Entfaltung eines globulären Proteins angenommen, ergeben sich gemittelt über alle energetischen Veränderungen (Bindungsbildung, -brechung, Proteinentfaltung etc.) für die Änderung der Gibbs-Energie Werte zwischen 21 - 63 kJ·mol⁻¹⁽²⁵³⁾.

Zudem lässt sich vermuten, dass die treibende Kraft für die beobachtete Adsorption der Proteine auf der nanopartikulären Oberfläche die Entropieänderung, welche durch den irreversiblen Verlust der nativen Proteinstruktur entsteht, ist.

5.2.3. Zusammenfassung der Ergebnisse

Im Rahmen dieser Experimente konnte gezeigt werden, dass Proteine die salzinduzierte Agglomeration von ladungsstabilisierten Silbernanopartikeln verhindern können. Dies demonstriert erneut die enorme Wichtigkeit der genauen Charakterisierung der Wechselwirkungen zwischen Nanopartikeln und den umgebenden Komponenten für die genaue Determinierung der Expositionswege von Nanopartikeln in umweltrelevanten und biologischen Systemen.

Zudem wurde eine neue Methode auf Basis der Beobachtung der thermischen Trajektionspfade von nanopartikulären Systemen entwickelt. Diese Methode nutzt die stabilisierenden Effekte in Bezug zur Agglomerationskinetik, um Bindungsaffinitäten von sterischen und elektrosterischen Liganden auf kolloidalen Oberflächen zu bestimmen.

Die aus diesen Messungen erhaltenen K_D -Werte stimmen gut mit den aus der CD-Spektroskopie erhaltenen Werten überein. Da sich die erhaltenen K_D -Werte im unteren nanomolaren Bereich befinden, zeigt sich, dass eine starke Bindungsaffinität der HSA-Moleküle zu der metallischen Nanopartikeloberfläche vorliegt. Darüber hinaus konnte demonstriert werden, dass hierbei die sich um das Partikel bildende Protein-Corona aus einer Monolage besteht. Dies wurde ebenfalls für die HSA-Adsorption auf polymerbeschichteten Nanopartikeln berichtet^(74,243)

5.3. SERS-Messungen zum Ligandenaustausch von Nanopartikeln

In den vorangegangenen Experimenten wurde gezeigt, dass die kolloidale Stabilität von Nanopartikeln durch verschiedene Faktoren, wie zum Beispiel ionische Komponenten, signifikant beeinflusst werden kann. Im Falle der nanopartikulären Wechselwirkung mit dem Protein HSA zeigte sich, dass ein Ligandenaustausch zwischen Protein und Citrat existiert. Die zuvor vorhandene elektrostatische Stabilisierung des Citrats wird dabei durch eine sterische oder elektrosterische Stabilisierung der Proteine ersetzt.

Um eine erhöhte kolloidale Stabilität zu erzielen, werden kolloidale Suspensionen häufig nach der Synthese durch andere Liganden refunktionalisiert. Tri-(natrium-meta-sulfonatophenyl)-phosphan (TPPTS) wird häufig als austauschender Ligand eingesetzt^(254,255). Es ist allerdings immer noch unklar, in welchem Maße diese Austauschreaktionen ablaufen. Die folgenden Experimente sollten ermitteln, ob der zuvor vorhandene elektrostatische Ligand komplett durch den sterischen oder elektrosterischen Liganden ausgetauscht wird.

Als exemplarisches und einfach zugängliches Modell wurde der Ligandenaustausch von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln mit TPPTS mittels oberflächenverstärkte Ramanpektroskopie (SERS) untersucht. Diese Methode ist extrem sensitiv, um Moleküle zu untersuchen, welche sich auf kolloidalen und nanostrukturierten Metalloberflächen befinden^(41-43,256). Zudem ist gut bekannt, dass Silbernanopartikel ein exzellentes Substrat für diese Methode darstellen^(98,257).

Ein weiterer Aspekt von SERS ist, dass durch das im Partikel induzierte Plasmon nur die Schwingungsbanden der auf der partikulären Oberfläche befindlichen Moleküle verstärkt werden⁽²⁵⁸⁻²⁶⁰⁾. Ungebundene Liganden erfahren aufgrund ihres größeren Abstands zur Oberfläche bei diesem Verfahren keine Verstärkung^(98,257). Die direkte Quantifizierung der absorbierten Substanzen aus dem resultierenden SERS-Signal ist allerdings nicht möglich. Da in den meisten Fällen das Adsorptionsgleichgewicht nicht bekannt ist, ist die in der Lösung vorhandene Konzentration nicht proportional zu der mit SERS ermittelten Oberflächenkonzentration. Zudem hängt das detektierte SERS-Signal stark vom Agglomerationszustand und der Beschaffenheit der zu untersuchenden kolloidalen Suspension ab. Um die Konzentrationen der individuellen Komponenten zu evaluieren, wurden in dieser Versuchsreihe hauptsächlich Intensitätsverhältnisse verwendet⁽²⁶¹⁻²⁶³⁾.

Die hohe Oberflächenselektivität des SERS-Signals stellt einen großen Vorteil dar. Hierdurch lassen sich Messungen direkt in der kolloidalen Suspension und ohne vorheriger Separation der gebunden und ungebundenen Liganden durchführen. Diese Trennungsprozesse, wie beispielsweise Zentrifugation oder auch Dialyse, können das vorhandene Gleichgewicht signifikant beeinflussen und führen somit häufig zu Problemen bei der Interpretation der erhaltenen Daten.

Die hier vorgestellten Experimente wurde gemeinsam mit Herrn Graß (SERS) und der Arbeitsgruppe von Prof. Eppe (Universität Duisburg-Essen; NP-Synthese) durchgeführt. Es wurden erneut citrat-stabilisierte Silbernanopartikel nach Lee-Meisel synthetisiert und mit verschiedenen konzentrierten TPPTS-Lösungen versetzt. Der hydrodynamische Durchmesser der Partikel betrug 38 ± 4 nm. Anschließend wurden SERS-Spektren der auf der nanopartikulären Oberfläche befindlichen Liganden aufgenommen.

5.3.1. Aufbereitung und Funktionalisierung der Nanopartikel

Die Synthese, Aufbereitung und Funktionalisierung der citrat-stabilisierten Silbernanopartikel wurde von Herrn Diendorf (Ag Prof. Eppe) durchgeführt. Für diese experimentelle Reihe wurde die Nanopartikel für 15 Minuten ultrazentrifugiert (20.000 rpm, 29400 g), mit Reinstwasser gewaschen und anschließend redispergiert. Durch diesen Reinigungsprozess wurden sowohl die aus der Synthese vorhandenen Ionen als auch unreaktive Silberspezies sowie Oxidationsprodukte des Citrats quantitativ entfernt. Anschließend wurde die Dispersion in mehrere 10 mL Aliquote aufgeteilt und mit unterschiedlich konzentrierten TPPTS-Lösungen (0 bis $480 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) versetzt. Dies resultierte in einem gesamten Probenvolumen von 11 mL. Anschließend wurden die Proben für 16 h bei 21 °C equilibriert. Die Größenverteilungen der einzelnen Aliquote wurden mit dem BMNS-System evaluiert und die auf der Partikeloberfläche adsorbierten Moleküle mit SERS detektiert⁽²⁶³⁾.

5.3.2. Durchführung der SERS-Messungen

Die SERS-Messungen wurden mit dem Raman-Mikroskop der Firma Bruker mit einer spektralen Auflösung von $3\text{--}5\text{ cm}^{-1}$ und einer Anregungswellenlänge von 488 nm durchgeführt. Für die Aufnahmen der Spektren wurde ein $20\times$ Objektiv (Olympus®; M PlanN, 0.40 NA) verwendet. Da bekannt ist, dass SERS eine starke Sensitivität auf sogenannte, durch agglomerierende Kolloide hervorgerufene plasmonischen „Hotspots“⁽⁹⁸⁾ aufweist, wurden die Messungen in einem großem Detektionsvolumen durchgeführt und über einen langen Zeitraum von 30 s gemittelt. Alle Messungen wurden bei einer konstanten Laserleistung von 12 mW durchgeführt⁽²⁶³⁾.

Die folgende Abbildung zeigt zusammenfassend die aus dieser Messreihe ermittelten SERS-Spektren:

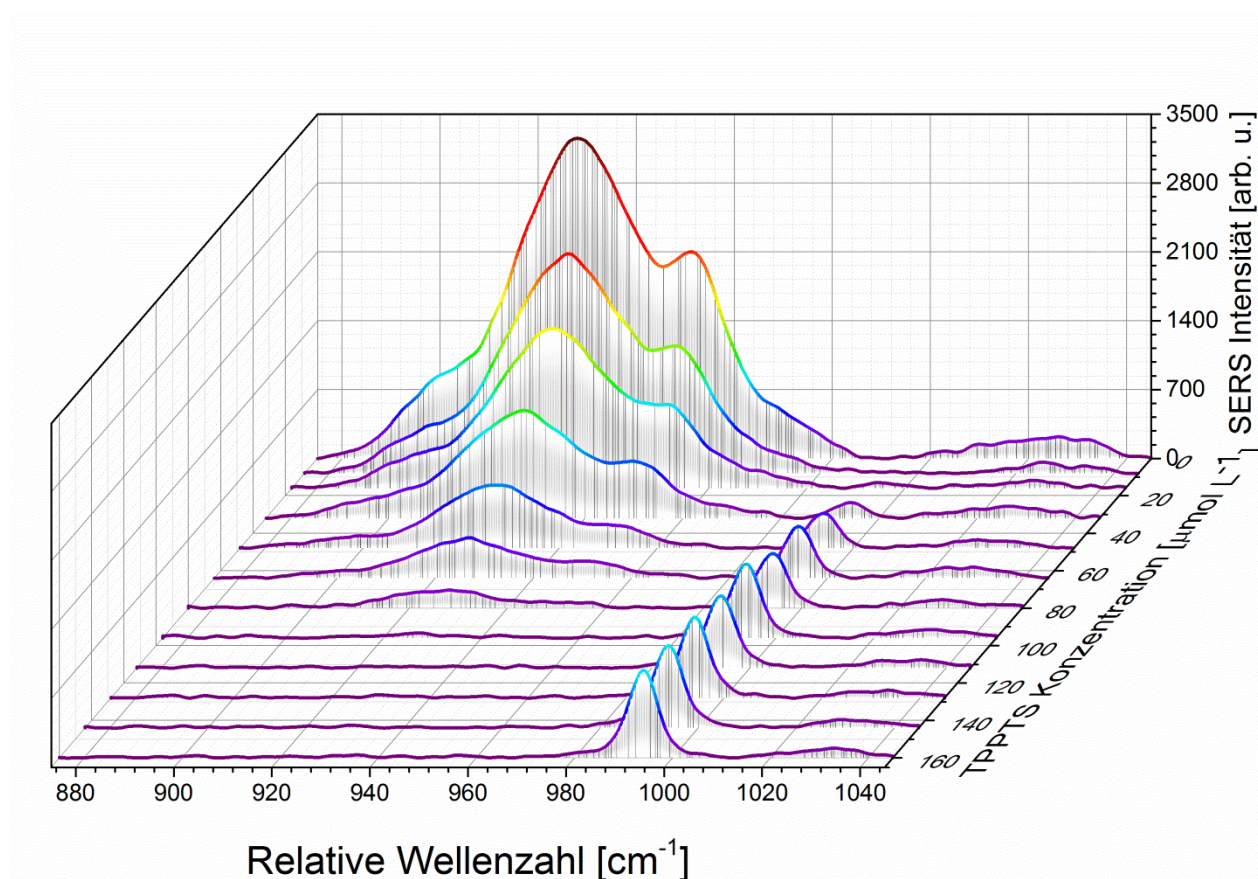


Abbildung 68: Ermittelte SERS-Spektren von citrat-stabilisierten Silbernanopartikeln nach Zugabe und Equilibrierung mit unterschiedlichen TPPTS-Konzentrationen. Die C-COO^- Streckschwingung des Citrats befindet sich bei circa $800\text{--}980\text{ cm}^{-1}$ (219,264,265) und die Ring-Atmungsschwingung des TPPTS bei 994 cm^{-1} (263,266,267).

Anhand Abbildung 68 wird ersichtlich, dass die von dem Citrat herrührende SERS-Bande bei $880\text{-}980\text{ cm}^{-1}$ mit steigender TPPTS Konzentration sinkt. Im Gegenzug ist ein deutlicher Anstieg des TPPTS-SERS-Signals mit zunehmender Konzentration zu erkennen⁽²⁶³⁾.

Diese Messungen bestätigen, dass das TPPTS die Oberfläche der Silbernanopartikel erreicht und ein Ligandenaustausch mit dem zuvor auf der Oberfläche befindlichen Citrat stattfindet. Ab einer TPPTS Konzentration von $96\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ konnte kein SERS-Signal des Citrats mehr detektiert werden. Dies zeigt, dass molekulare Liganden komplett durch andere Liganden von der partikulären Oberfläche verdrängt werden können⁽²⁶³⁾.

Die, mit dem BMNS-System ermittelten resultierenden hydrodynamischen Durchmesser der einzelnen kolloidalen Aliquote sind in der folgenden Abbildung aufgeführt:

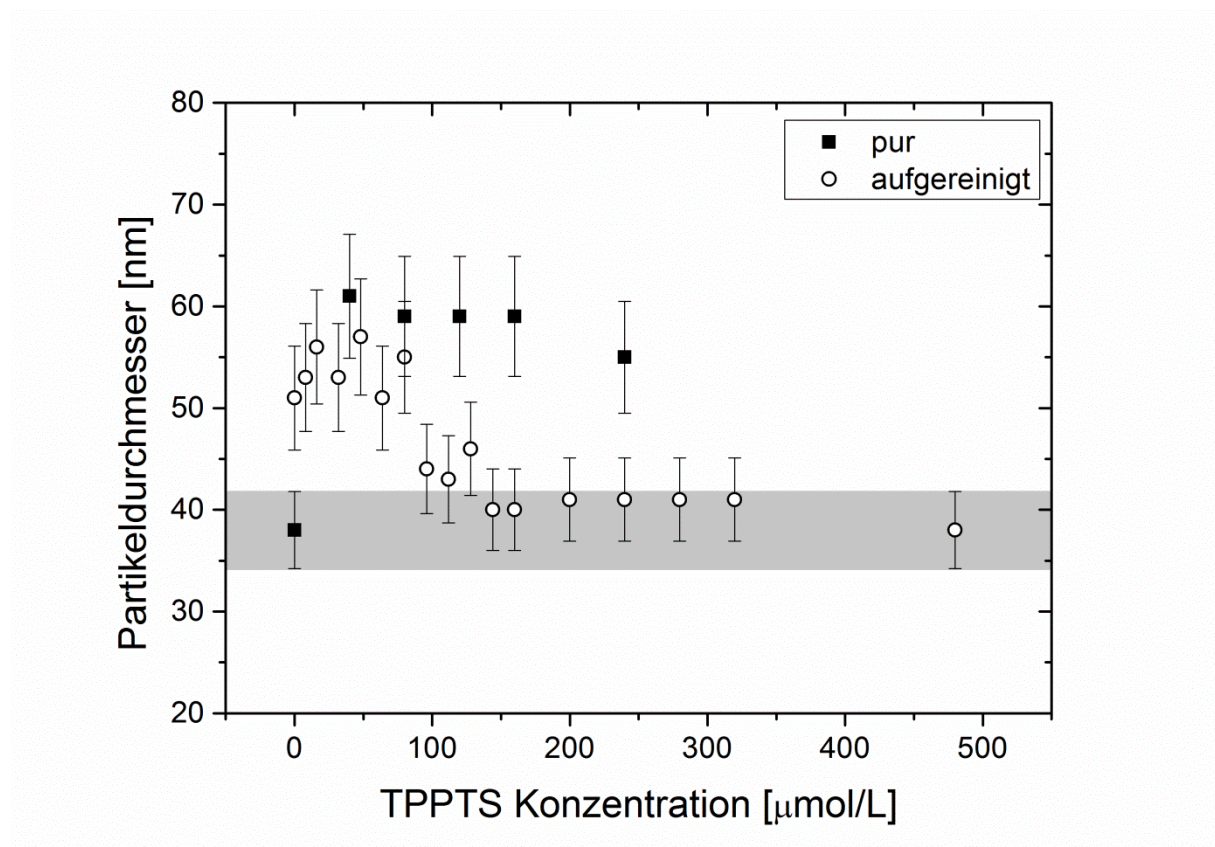


Abbildung 69: Mit dem BMNS-System ermittelte hydrodynamische Partikeldurchmesser der aufgereinigten (Ultrazentrifugation und Redispergierung) und puren (direkt nach der Synthese) citrat-stabilisierten Silbernanopartikel⁽²⁶³⁾.

Die in Abbildung 69 dargestellten Daten zeigen eine leichte Zunahme des hydrodynamischen Durchmessers der aufgereinigten und redispergierten Nanopartikel. Es zeigte sich jedoch eine Abnahme des hydrodynamischen Partikeldurchmessers nach Zugabe größerer Mengen TPPTS. Diese Abnahme reicht bis zu dem direkt nach der Synthese ermittelten Durchmesser. Interessanterweise entspricht diese Konzentration der SERS-Messung, in der kein Citrat mehr auf der nanopartikulären Oberfläche detektiert werden kann. Eine mögliche Erklärung wäre, dass bedingt durch die Redispergierung einzelne Agglomerate in der Suspension vorliegen. Die steigende Zugabe der TPPTS-Mengen führt allerdings dazu, dass Agglomerate durch die Adsorption des stabilisierenden Ligandens auf der nanopartikulären Oberfläche aufgebrochen werden können. Somit lässt sich der resultierende reduzierte Partikeldurchmesser vermutlich auf die reduzierte Anzahl an Agglomeraten zurückführen. Die kolloidale Suspension verbleibt ab einer TPPTS-Konzentration von $96 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ stabil. Dies reicht bis hin zu der maximal vermessen Konzentration von $480 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ⁽²⁶³⁾.

5.3.3. Zusammenfassung der SERS-Experimente

In dieser Messreihe wurde der Ligandenaustausch von Citrat und TPPTS auf der Oberfläche von Silbernanopartikeln untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass das Citrat vollständig durch TPPTS von der nanopartikulären Oberfläche verdrängt wird. Diese Ergebnisse zeigen erneut, wie wichtig die genaue Kenntnis der Partikelumgebenden Matrix ist. Sie lassen zudem erkennen, dass sich die kolloidale Beschaffenheit und die möglichen biologischen Wechselwirkungen in aquatischen oder biologischen Systemen schnell verändern können. Somit resultiert eine vollkommen veränderte Partikelmobilität. Auch verbleiben die durch den Ligandenaustausch abgespalteten Moleküle in dem System. Dies bringt insbesondere bei toxischen oder schwer abbaubaren Substanzen neue Problematiken mit sich⁽²⁶³⁾.

5.4. Nachweis und Verhalten von Nanopartikeln in realen Umweltproben

Wie bereits erwähnt, existieren kaum Daten zu Nanopartikelkonzentrationen in natürlichen Gewässern. In der folgenden experimentellen Messreihe wurde evaluiert, wie weit sich die entwickelte Methode zur quantitativen Analyse mit dem DPS-System auf reale Systeme anwenden lässt. Da die vermuteten Konzentrationen gering sind und unterhalb der üblichen Nachweisgrenzen liegen, wurde zunächst ein Gewässertyp gewählt, in dem eine erhöhte Anzahl an Nanopartikeln vermutet wurde. Die Wahl fiel auf Schwimmbäder. Diese sind in den Sommermonaten stark frequentiert, und durch die Verwendung von Sonnencremes ist das Vorhandensein von nanopartikulären Komponenten äußerst wahrscheinlich.

5.4.1. Entnahme der Schwimmbadproben

Die Proben wurden 3 anonymen Schwimmbädern im Bereich Essen und Gelsenkirchen an einem warmen Sommertag (16.08.12, Durchschnittstemperatur: 31°C, UV-Index: 5) innerhalb der Sommerferien nach an DIN-EN-ISO-5667-3 entnommen. Alle Bäder waren, wie in der Fotografie (Abbildung 70) zu erkennen ist, an diesem Tag stark frequentiert. Die einzelnen Schwimmbadproben wurden in einer Wassertiefe von etwa 1 m in der jeweiligen Mitte des Bades entnommen. Zusätzlich wurden aus den zugehörigen Duschen Blindproben zur vergleichenden Analyse entnommen.



Abbildung 70: Repräsentative Frequentierung der Schwimmbäder am Tage der Probenentnahmen.

Die Proben wurden für 24 h bei 4°C gelagert und im Anschluss mittels Rasterelektronenmikroskop (REM), Röntgenspektroskopie (EDX), Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) und optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) sowie mit dem entwickelten Dynamic-Particle-Sizer (DPS) analysiert.

5.4.1.1. DPS-Analyse der Schwimmbadproben

Anhand der DPS-Analyse der Schwimmbadproben, konnten nanopartikuläre Komponenten detektiert werden. Die Untersuchung der thermischen Trajektionspfade dieser Partikel lieferte einen gemittelten hydrodynamischen Durchmesser von 126 ± 5 nm. Allerdings konnten hier zeitgleich nur sehr wenige Partikel in der Observationsebene beobachtet werden. Hier befanden sich jeweils 3 Partikeln zur gleichen Zeit in der Observationsebene. Partikuläre Objekte konnten in allen 3 vermessenen Schwimmbadproben beobachtet werden, wohingegen die vermessenen Blindproben keine partikulären Komponenten aufwiesen. Exemplarische Ergebnisse einer Messung über 1200 Frames (40 s) sind in der folgenden Abbildung dargestellt:

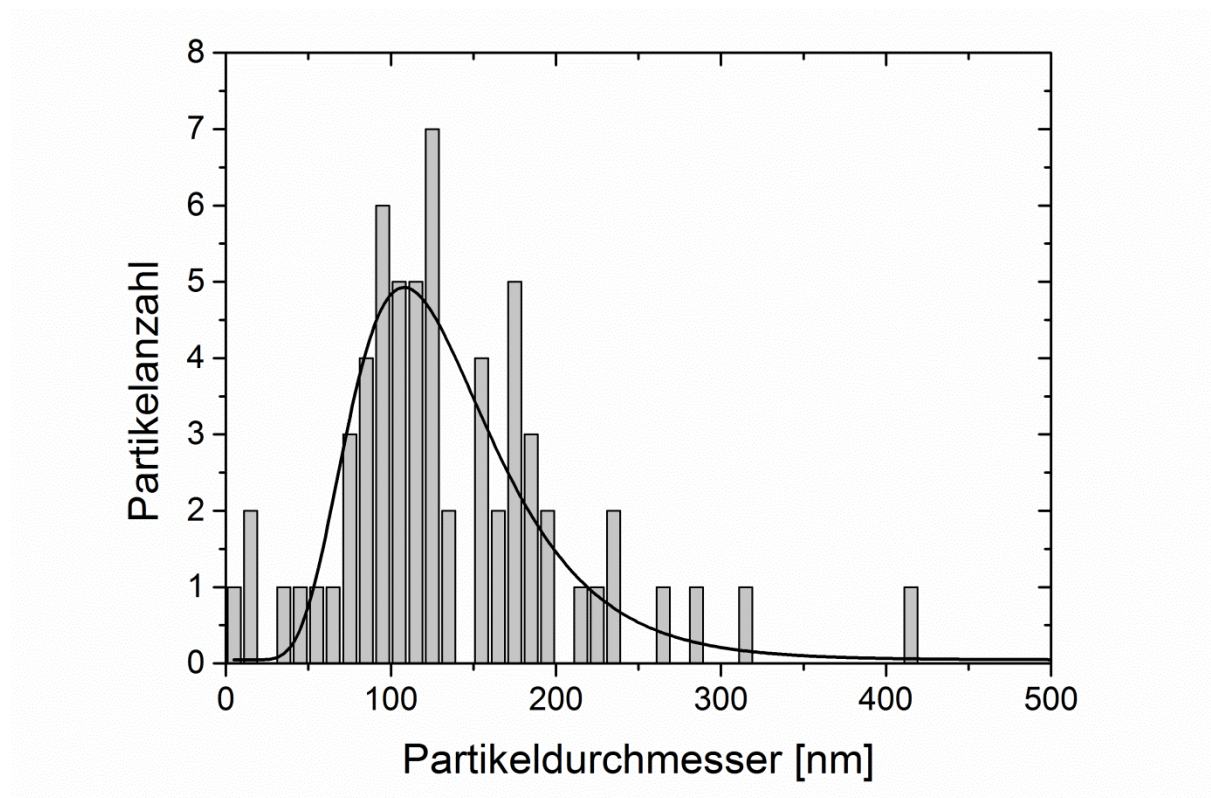


Abbildung 71: Exemplarisches Histogramm der detektierten partikulären Objekte in der entnommenen Gewässerprobe von Schwimmbad 1.

Bedingt durch die hohe Schwebstoffkonzentration und der damit einhergehenden sehr inhomogenen Verteilung konnte kein valide auswertbares DLS-Signal detektiert werden.

Im nächsten Schritt wurde das resultierende mittlere Verschiebungsquadrat gegen die Zeit aufgetragen. Dieses Verfahren zeigt, ob es sich bei der observierten Bewegung um eine gerichtete oder ungerichtete Bewegung handelt. Sollte es sich bei den detektierten Objekten um lebendige, biologische Organismen handeln, so sollte deren gerichtete Bewegung zu einem deutlichen exponentiellen Verlauf führen⁽²⁶⁸⁾. Handelt es sich allerdings um partikuläre Komponenten, so ist der Verlauf linear.

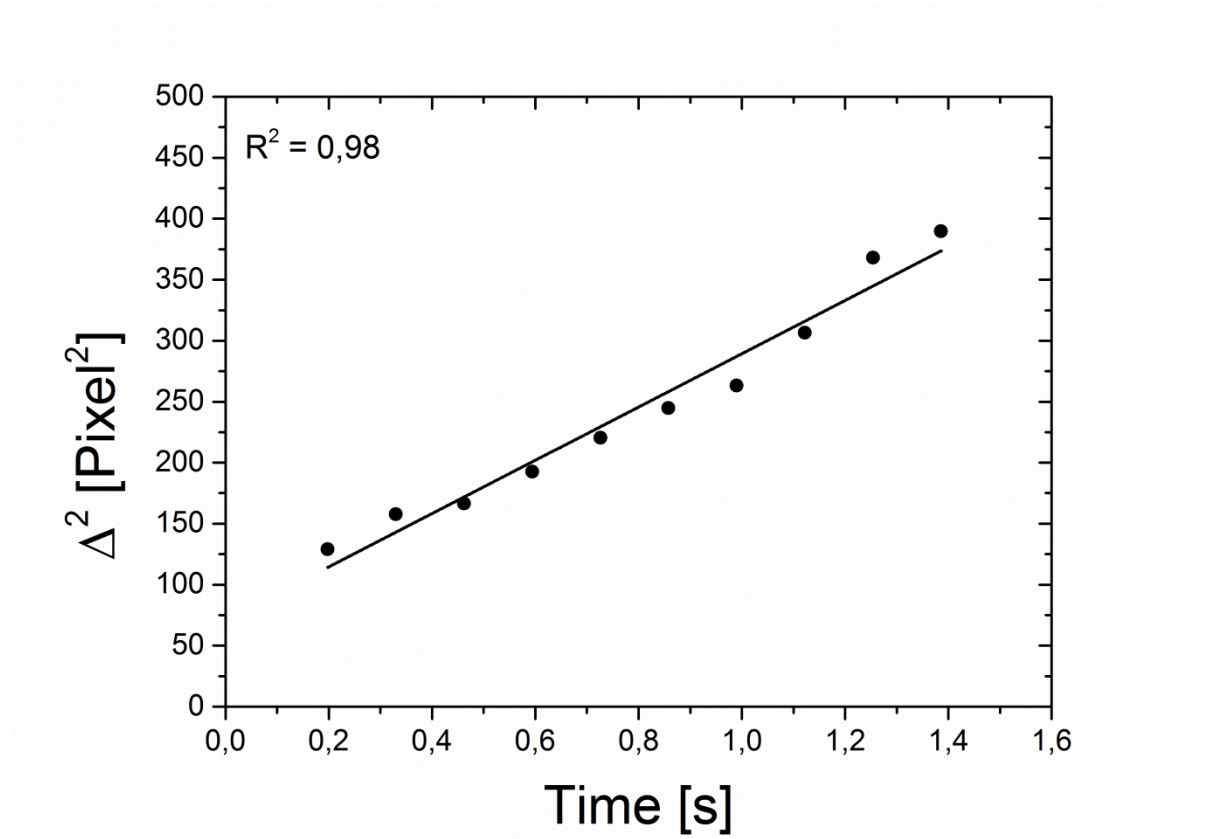


Abbildung 72: Exemplarische Auftragung des mittleren Verschiebungsquadrats gegen die Zeit. Der lineare Verlauf liefert Hinweise auf eine ungerichtete Bewegung, wie sie bei der Brown'schen Molekularbewegung vorliegt.

Die Analyse der einzelnen Trajektionspfade zeigte, dass die detektierten Trajektionspfade ungerichtete Bewegungen repräsentieren und es sich somit um partikuläre Komponenten handelt. Um das Material und die Beschaffenheit der in den Schwimmbädern detektierten Partikel zu bestimmen, wurden die Proben anschließend sowohl mit REM/EDX als auch mit ICP-MS und -OES untersucht.

5.4.1.2. REM- und EDX-Analysen der Schwimmbadproben

Die REM- und EDX-Analyse wurden vom Arbeitskreis Epple (U. Giebel) mit einem Rasterelektronenmikroskop (ESEM Quanta 400 FEG) durchgeführt. Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigten neben großen Salzkristallen auch kleine sphärische Objekte, die zudem innerhalb des anhand der BMNS-Messungen erwarteten Größenbereichs von 100 nm, lagen.

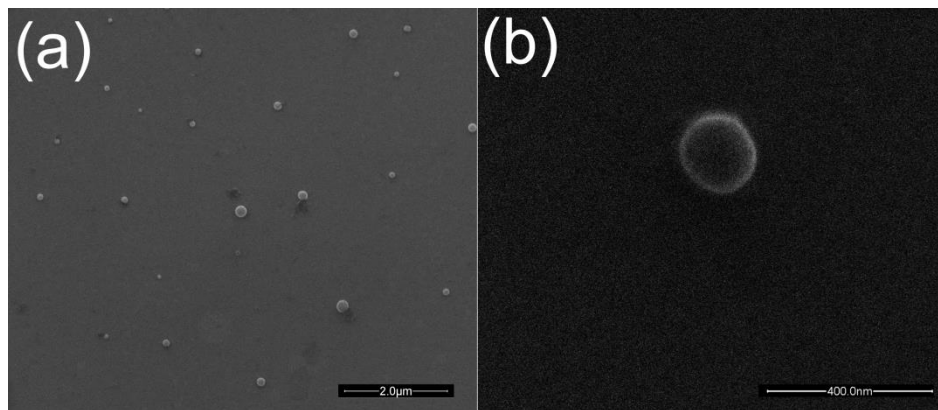


Abbildung 73: REM-Aufnahmen der nanopartikulären Komponenten zweier Schwimmbäder.

Diese partikulären Komponenten ließen sich in allen untersuchten Schwimmbadproben vorfinden. Die EDX-Aufnahmen dieser Partikel lieferten jedoch keine Hinweise auf aus Sonnencremes stammendes Titandioxid. Hauptsächlich konnte das von dem Probenträger herrührende Silizium detektiert werden. Silizium könnte auch durch Verunreinigungen, wie zum Beispiel Sand (Quarz) herrühren. Desweiteren befanden sich noch geringe Mengen an Kohlenstoff, Natrium und Chlorid in den mit EDX untersuchten Bereichen. Sollten dennoch Titandioxidpartikel in den entnommen Proben vorhanden sein, so war die dort vorhandene Konzentration zu gering, um das Titan erfolgreich anhand EDX-Messungen zu detektieren.

5.4.1.3. ICP-MS- und ICP-OES-Analyse der Schwimmbadproben

Die Probenanalysen mittels ICP-MS (DIN EN ISO 11885) und -OES (DIN EN ISO 17294) wurden vom Rheinisch-Westfälischen Institut für Wasser (IWW) durchgeführt und lieferte folgende Ergebnisse:

	Schwimmbad 1		Schwimmbad 2		Schwimmbad 3	
	Badprobe (mg/L)	Blindprobe (mg/L)	Badprobe (mg/L)	Blindprobe (mg/L)	Badprobe (mg/L)	Blindprobe (mg/L)
Fe	< 0,010	0,016	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010
Al	0,055	<0,010	0,109	<0,010	<0,010	<0,010
Zn	<0,010	0,015	<0,010	<0,010	0,013	<0,010
Ag	<0,0010	<0,0010	<0,0010	<0,0010	<0,0010	<0,0010
Ti	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050	<0,0050
Pt	<0,000010	<0,000010	<0,000010	<0,000010	<0,000010	<0,000010
Au	<0,000030	<0,000030	0,000064	<0,000030	<0,000030	<0,000030

Tabelle 5: Ergebnisse der ICP-MS und -OES Messungen der entnommenen Schwimmbadproben.

Sowohl Schwimmbad 1 als auch Schwimmbad 2 zeigten erhöhte Aluminiumwerte. Dies lässt sich vermutlich auf den in Deos vorhandenen Inhaltsstoff Alaun zurückführen. Die Blindprobe aus der Dusche von Schwimmbad 2 zeigte zudem erhöhte Eisen- und Zink-Werte. Diese entstammen vermutlich dem Rohrleitungssystem der Dusche. Interessanterweise konnte in der aus Schwimmbad 2 entnommenen Konzentration eine erhöhte Menge Gold detektiert werden. Dies könnte ein Hinweis auf aus Kosmetika herrührende Goldpartikel sein.

Im Falle des Titans liegt die Nachweisgrenze unterhalb $0,0050 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Da aus den Validierungsmessungen bekannt ist, dass mit Hilfe des DPS-Systems die Anzahl der in der Lösung befindlichen Partikel evaluiert werden kann, wurde dieses Verfahren auf die in den Gewässerproben detektierten partikulären Komponenten angewandt.

Hierzu wurden 0,0125 g kommerziell erhältliche Titandioxidpartikel (Evonik; Aeroxide® TiO₂ P 25) in 45 mL Reinstwasser gegeben und für 30 Minuten im Ultraschallbad dispergiert. Die resultierende Suspension wurde anschließend um 1/1000 verdünnt und mit dem DPS-

System charakterisiert. Die Observation der thermischen Trajektionspfade lieferte einen hydrodynamischen Durchmesser von 167 ± 12 nm und die dynamische Lichtstreuung lieferte einen hydrodynamischen Durchmesser von 485 ± 24 nm. Die untersuchte kolloidale Suspension besaß somit eine starke Polydispersität, sollte aber trotzdem repräsentativ genug für die folgende vergleichende Analyse sein. Die so hergestellte Suspension wurde in mehreren Schritten verdünnt und wiederum (wie in Kapitel 4.4.3.2.) wurde die Anzahl der beobachteten Partikel gegen die gesamten in der Lösung vorhandenen Nanopartikel aufgetragen und die Dimensionen der Observationsebene und des gesamten Volumens wurden angepasst (mit $2/3$ potenziert).

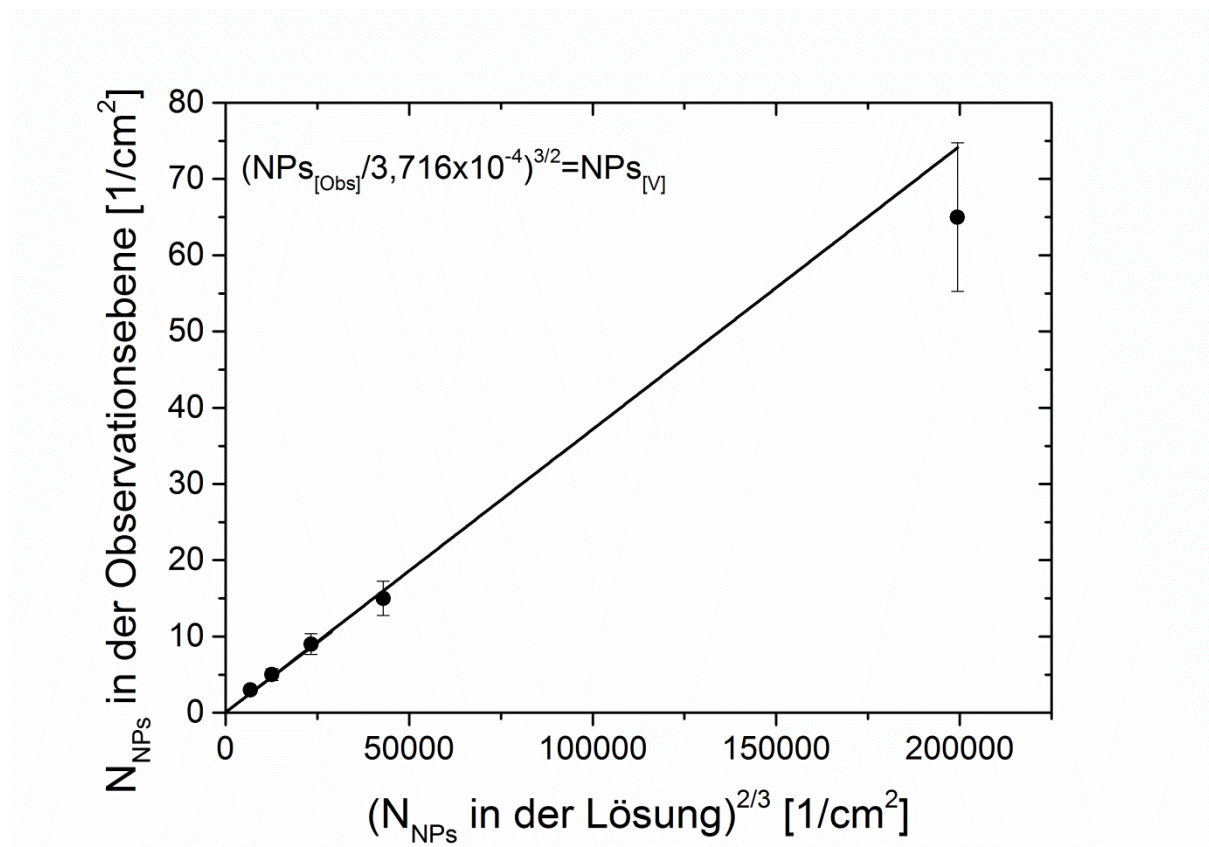


Abbildung 74: Validierende Quantifizierung der vermessenen Titandioxidpartikel mit einem hydrodynamischen Durchmesser von 167 ± 12 nm.

Anhand Abbildung 74 lässt sich nun die ungefähre Gesamtanzahl der möglichen in der Schwimmbadprobe enthaltenen Titandioxidpartikel evaluieren. Die beobachtete Anzahl von 3 partikulären Komponenten in einem Frame geht mit einer realen Partikelanzahl von $7,25 \cdot 10^5$ $\text{NPs} \cdot \text{mL}^{-1}$ einher. Die Detektionsgrenze der ICP-OES-Methode lag bei $0,0050 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Titan.

Somit läge die absolute Partikelanzahl, wenn von reinen TiO_2 -Partikeln ausgegangen wird, bei $3,56 \cdot 10^5 \text{ NPs} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Die resultierende Partikelanzahl läge trotz der relativ großen Anzahl etwa in dem Bereich der analytischen Nachweisgrenze. Zudem beinhalten Sonnencremes in der Regel keine reinen Titandioxidpartikel sondern sogenannte Titandioxid Nanokomposite⁽²⁶⁹⁾. Da bekannt ist, dass Nanopartikel in Verbindung mit UV-Licht photokatalytische Wirkungen besitzen, werden sie üblicherweise mit Aluminium, Magnesium, Silica oder Zirkonium^(270,271) ummantelt. Diese Ummantelung retardierte die photokatalytische Wirkung⁽²⁶⁹⁾. Unter Berücksichtigung dieser zusätzlichen Ummantelung verringert sich die resultierende Titanmenge nochmals. Dies wirkt sich natürlich auch auf die Detektionsgrenze der ICP-OES-Methode aus, d. h. es würden nochmals wesentlich mehr Partikel benötigt um einen qualitativen Nachweis zu ermöglichen. Das entwickelte DPS-System bietet hier eine wesentlich bessere Methode des quantitativen Nachweises von nanopartikulären Materialien.

Insgesamt konnte kein qualitativer Nachweis der vermuteten Titandioxid-Partikel durchgeführt werden. Es wurden zwar nanopartikuläre, nicht lebendige Spezies mit dem DPS-System und dem REM beobachtet, jedoch konnte mit den vorhandenen analytischen Methoden keine Hinweise auf das Material der partikulären Komponenten erhalten werden. Somit ließ sich nicht eindeutig klären, ob es sich bei den beobachteten Partikeln um anthropogen erzeugte oder natürliche Nano-Komponenten handelte.

Zudem konnte gezeigt werden, dass selbst, wenn eine relative große Anzahl kolloidaler Komponenten im Nanometerbereich vorkommen würden, die qualitativen analytischen Methoden wie EDX und ICP-MS/-OES für die Bestimmung unzulänglich sind.

Zukünftig müssten mit dem hier vorgestellten Verfahren in unterschiedliche Wassertiefen und an mehreren Stellen Proben entnommen werden, da eine Agglomeration und/oder Sedimentation der Nanopartikel in diesem Fall zudem sehr wahrscheinlich ist. Dies stellt ebenfalls eine wichtige zu untersuchende Tatsache dar, da selbst agglomerierte voluminöse Titandioxid-Nanopartikel eine, im Vergleich zum Bulk-Material, erhöhte Oberfläche besitzen. Würden diese in aquatische Süßwasser-Systeme gelangen, so wirken diese sedimentierten Nanopartikel und -komposite toxisch auf kleinere Organismen^(272,273).

5.4.2. Zusammenfassung der experimentellen Analysen

Um das entwickelte Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Nanopartikeln zu testen, wurden in dieser Versuchsreihe drei Schwimmbädern im Bereich Gelsenkirchen und Essen Wasserproben entnommen und auf nanopartikuläre Komponenten untersucht. Die Messungen mit dem DPS-System und die rasterelektronenmikroskopische Analyse zeigten tatsächlich nanopartikuläre Komponenten. Die Konzentration der detektierten Partikel war allerdings so gering, dass die möglichen Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenzen der qualitative Methoden (EDX, ICP-MS/-OES) lagen. Es konnten somit das Material der detektierten partikulären Komponenten nicht identifiziert werden. Die hier dargestellte Herangehensweise sowie das neu entwickelte DPS-System ebnen jedoch den Weg für zukünftige Analysen potentieller Expositionsrouten von partikulären Komponenten.

5.5. Verhalten von citrat-stabilisierten Silberkolloiden in realen Gewässern

Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob sich die entwickelten methodischen Ansätze, auch auf andere reale Systeme übertragen lassen. Da von dem vorliegenden kolloidalen System genügend theoretische und experimentelle Daten bezüglich der Agglomerationskinetik mit ionischen Komponenten und mit Huminstoffen sowie Partikelgröße, Partikeloberfläche und Stabilität evaluiert wurden, konnte im nächsten Schritt das Verhalten der citrat-stabilisierten Lee-Meisel Silbernanopartikel unter Verwendung des DPS-Systems in realen Umweltproben untersucht werden. Hierzu wurden vier unterschiedliche Gewässer in Anlehnung an DIN-EN-ISO-5667-3 Proben entnommen, ionenchromatographisch untersucht und anschließend mit Silbernanopartikeln versetzt. Das Verhalten der kolloidalen Suspensionen wurde dann für ca. 30 Minuten mit dem DPS-System verfolgt.

5.5.1. Entnahme der Gewässerproben

Alle Gewässerproben wurden mit 50 mL Polyethylene-Gefäßen (Carl Roth GmbH; X063.1) ufernah in einer Wassertiefe von etwa 20 cm entnommen. Anschließend wurden die Probenröhrchen mit Parafilm M abgedichtet und für 24 h bei 4°C gelagert. Von jedem Gewässer wurden mehrere Aliquote entnommen, um Kontaminationen beim Öffnen der Probengefäße für die Analyse der Ionen und der Agglomerationsstudien zu vermeiden.

Die erste entnommene Gewässerprobe wurde dem künstlich angelegten Ruhrstausee Baldeney-See in Essen entnommen. Als zweite Gewässerprobe wurde die Bundeswasserstraße Rhein-Herne-Kanal im Bereich Bottrop beprobt. Da diese beiden Gewässerproben kaum Schwebstoffe besaßen, wurde als Gewässer mit einer höheren Schwebstoffkonzentration die vor der Universität Duisburg-Essen befindliche Teichanlage gewählt. Im Gegensatz zu den klaren, farblosen Wasserproben aus dem Baldeney-See und dem Rhein-Herne-Kanal, besaß die aus der Teichanlage entnommene Probe eine leicht grünliche Färbung, welche auf eine erhöhte Biomasse zurückzuführen ist. Als weitere Referenzprobe mit geringer Ionen- und Schwebstoffkonzentration wurde das kohlensäurefreie Mineralwasser Volvic naturelle, welche für die Zubereitung von Babynahrung geeignet ist, gewählt.

Die geografischen und physikalisch-chemischen Daten der einzelnen Probenentnahmen sind in den folgenden Abbildungen zusammenfassend dargestellt:

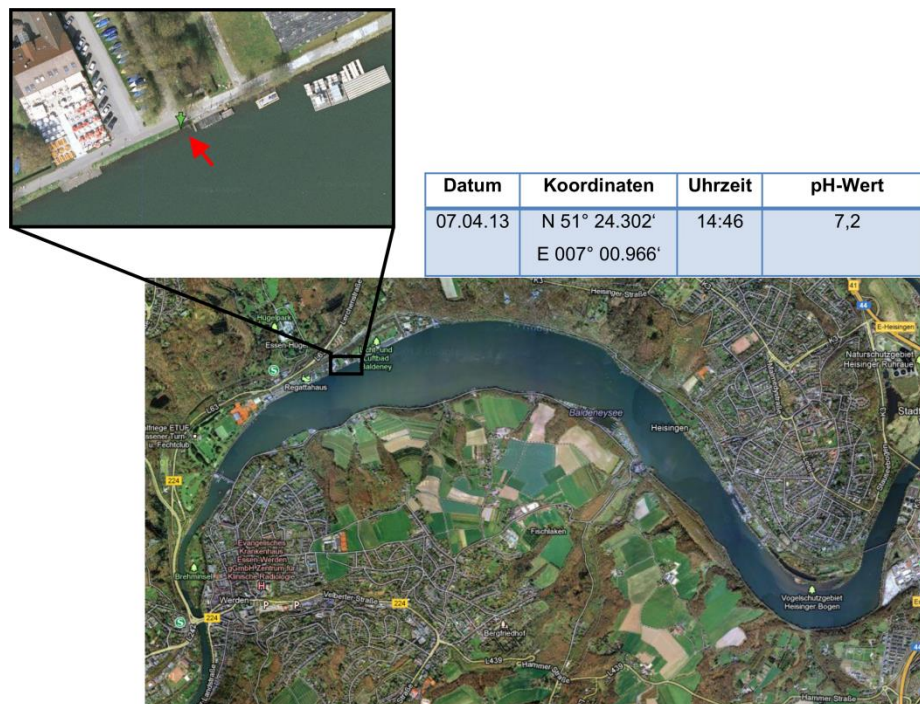


Abbildung 75: Parameter und Satellitenbild[267] des Probenentnahmeortes Baldeney-See in Essen.

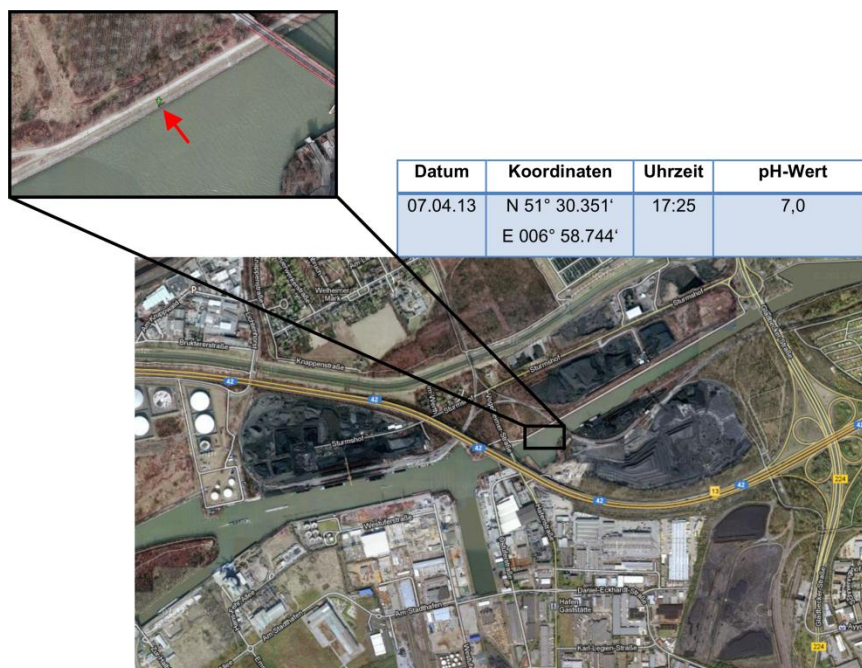


Abbildung 76: Parameter und Satellitenbild[266] des Probenentnahmeortes Rhein-Herne-Kanal in Bottrop.

Datum	Koordinaten	Uhrzeit	pH-Wert
08.04.13	N 51° 27.851' E 007° 00.289'	12:31	7,2

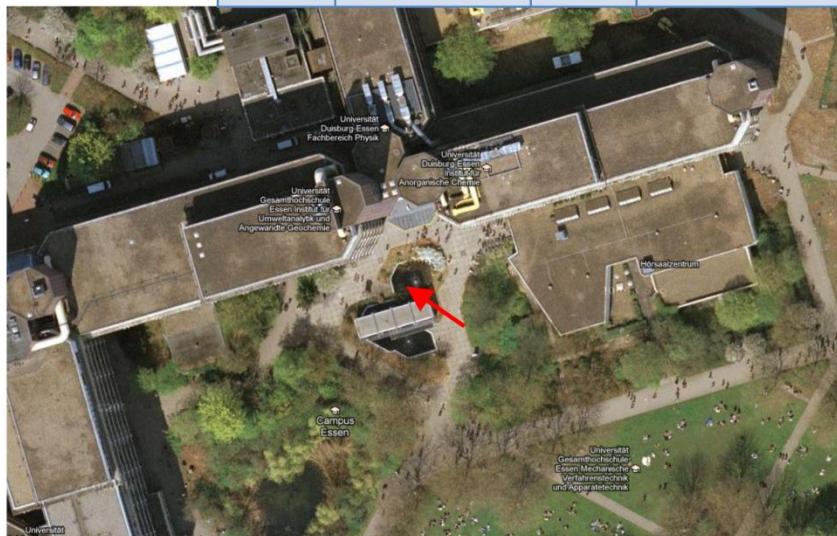


Abbildung 77: Parameter und Satellitenbild[266] des Probenentnahmeortes Teichanlage der Universität Duisburg-Essen in Essen.

5.5.2. Ionenchromatographische Analyse der Gewässerproben

Die ionenchromatographische Analyse der Gewässerproben wurde angelehnt an die europäische Norm EN ISO 10304-1 durchgeführt. Der verwendete Ionenchromatograph der Firma Metrohm (883 Basic IC plus) ist mit einer Hochdruckpumpe, einem Anionenaustauscher (Metrohm; Metrosep A Supp 4 – 250/4.0) und einer Vorsäule (Metrohm; Metrosep A Supp 4/5 Guard 4.0) ausgestattet. Die Messungen wurden bei einem Druck von ca. 74 bar und einem resultierenden Fluss von $1 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ durchgeführt. Als mobile Phase wurde ein $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ -Eluent verwendet.

Vor den einzelnen Messungen wurde das System mit einer frisch hergestellten Mischstandardlösung kalibriert. Die Kalibrationen der einzelnen Anionen-Spezies sind im Anhang dieser Arbeit aufgeführt. Vor den Messungen wurden die Gewässerproben mit einem Spritzenfilter (Carl Roth GmbH; Rotilabo®Spritzenfilter, Porengröße $0,45 \text{ }\mu\text{m}$) von vorhandenen Organismen und weiteren Schwebstoffen befreit. Anschließend wurde von jeder Probe eine dreifach Bestimmung der Anionen mit einer jeweils 15-minütigen Aufnahmedauer durchgeführt. Die realen Konzentrationen wurden dann anhand der Fläche der zugehörigen Retentionszeiten der einzelnen Anionen im Bezug zu der durchgeführten Kalibration

bestimmt. In dieser Messreihe wurden die Anionen Fluorid, Chlorid, Nitrat und Sulfat bestimmt. Detaillierte Messergebnisse können dem Anhang dieser Arbeit entnommen werden.

In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse zusammenfassend dargestellt:

	F ⁻ (mg/L)	Cl ⁻ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)
Baldeney-See (Essen)	0,29	88,00	12,66	48,97
Rhein-Herne-Kanal (Bottrop)	0,21	99,80	26,86	48,43
Universität-Teichanlage (Essen)	0,47	148,18	0,00	8,88
Volvic naturelle	0,31	15,90	6,57	8,08

Tabelle 6: Aus den Gewässerproben ionenchromatographisch ermittelte Massenkonzentration der einzelnen vermessenen Anionen.

Das Mineralwasser besaß die wenigsten Anionen. Der Baldeney-See, der Rhein-Herne-Kanal und die Teichanlage zeigten wesentlich höhere Anionen-Konzentrationen. Bemerkenswerterweise konnte in der Teichanlage kein Nitrat und kaum Sulfat nachgewiesen werden. Um dieses Ergebnis zu bestätigen wurde der Nitrat-Wert erneut mit einem Schnelltest (Tetra GmbH; Tetratest) ermittelt. Auch hier konnte kein Nitrat gefunden werden. Dies lässt sich vermutlich darauf zurückführen, dass die Proben nach einer langen wolkenbedeckten Periode entnommen wurden. An den Tagen der Probenentnahmen schien seit langer Zeit zum ersten Mal die Sonne und somit wurden die im Wasser befindlichen Nährstoffe (Nitrat, Sulfat etc.) wahrscheinlich durch Photosynthese der im Wasser befindlichen Biomasse abgebaut. Dies ließ sich ebenfalls durch die beobachtete grünliche Färbung der entnommen Proben fundieren.

Im nächsten Schritt wurde eine ungefähre Ionenkonzentration anhand der gemessenen Anionen-Mengen bestimmt. Hierzu wurde die Massen in molare Mengen umgerechnet und aufaddiert, dass Sulfat-Anion wurde hierbei, aufgrund seiner zweifachen Valenz und des stärkeren Einflusses auf die repulsive Barriere (Kapitel 5.1.) zweifach gewertet. Die so erhaltenen Werte lassen sich allerdings nur vergleichend verwenden, da sich neben den

gemessenen Ionen auch noch weitere Ionen, wie zum Beispiel Carbonat, innerhalb der entnommenen Gewässerproben befinden.

Mit diesen Verfahren wurden folgende relative Ionenkonzentrationen ermittelt:

	Relative Ionenkonzentration (mol/L)
Baldeney-See (Essen)	$3,72 \cdot 10^{-3}$
Rhein-Herne-Kanal (Bottrop)	$4,35 \cdot 10^{-3}$
Universität-Teichanlage (Essen)	$4,39 \cdot 10^{-3}$
Volvic naturelle	$0,74 \cdot 10^{-3}$

Tabelle 7: Aus den Ergebnissen der Ionenchromatographie ermittelte relative Ionenkonzentrationen. Aufgrund der resultierenden erhöhten Destabilisierung von zweiwertig geladenen Anionen wurde die molare Masse der Sulfat-Anionen zweifach gewichtet.

Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die repulsive Barriere der kolloidalen Lee-Meisel-Suspension aufgrund der niedrigen Ionenstärke des Mineralwassers durch dieses am wenigsten destabilisiert werden sollte. Der Rhein-Herne-Kanal und die Teichanlage der Universität Duisburg-Essen besitzen ähnlich hohe Ionenkonzentrationen und sollten die repulsive Barriere somit am stärksten schwächen. Die relative Ionenstärke des Baldeney-Sees hingegen sollte im Bezug zu den anderen Gewässern einen mittelstarken Einfluss besitzen.

5.5.3. Agglomerationsstudien in umweltrelevanten Proben

Um das Verhalten der citrat-stabilisierten Silbernanopartikel in realen Gewässerproben zu untersuchen, wurden die für die Messungen im Kapitel 4.5.2. eingesetzten und gut charakterisierten citrat-stabilisierter Silbernanopartikel nach Lee-Meisel verwendet. Die Nanopartikel wurden hierzu mit den zuvor charakterisierten Gewässerproben versetzt. Da die Gewässerproben bei 4°C über 24 h gelagert wurden, waren größere Schwebstoffe bereits sedimentiert. Dadurch konnten die Wasserproben direkt und ohne weitere Aufbereitung mit der kolloidalen Suspension dispergiert werden. Um eine Vergleichbarkeit mit den im Kapitel 4.5.2. durchgeführten Validierungsmessungen zu gewährleisten, wurden exakt die gleichen Bedingungen eingehalten.

Es wurden jeweils 100 µL der Gewässerproben auf 300 µL der kolloidalen Suspension gegeben. Daraus resultiert eine Partikelanzahl von $6,33 \cdot 10^{10}$ NPs·mL⁻¹. Die Agglomeration der so hergestellten Suspension wurde anschließend mit dem DPS-System über einen Zeitraum von 30 bis 40 Minuten beobachtet. In der folgenden Abbildung ist die induzierte Partikelagglomeration in der Gewässerprobe des Baldeney-Sees exemplarisch dargestellt:

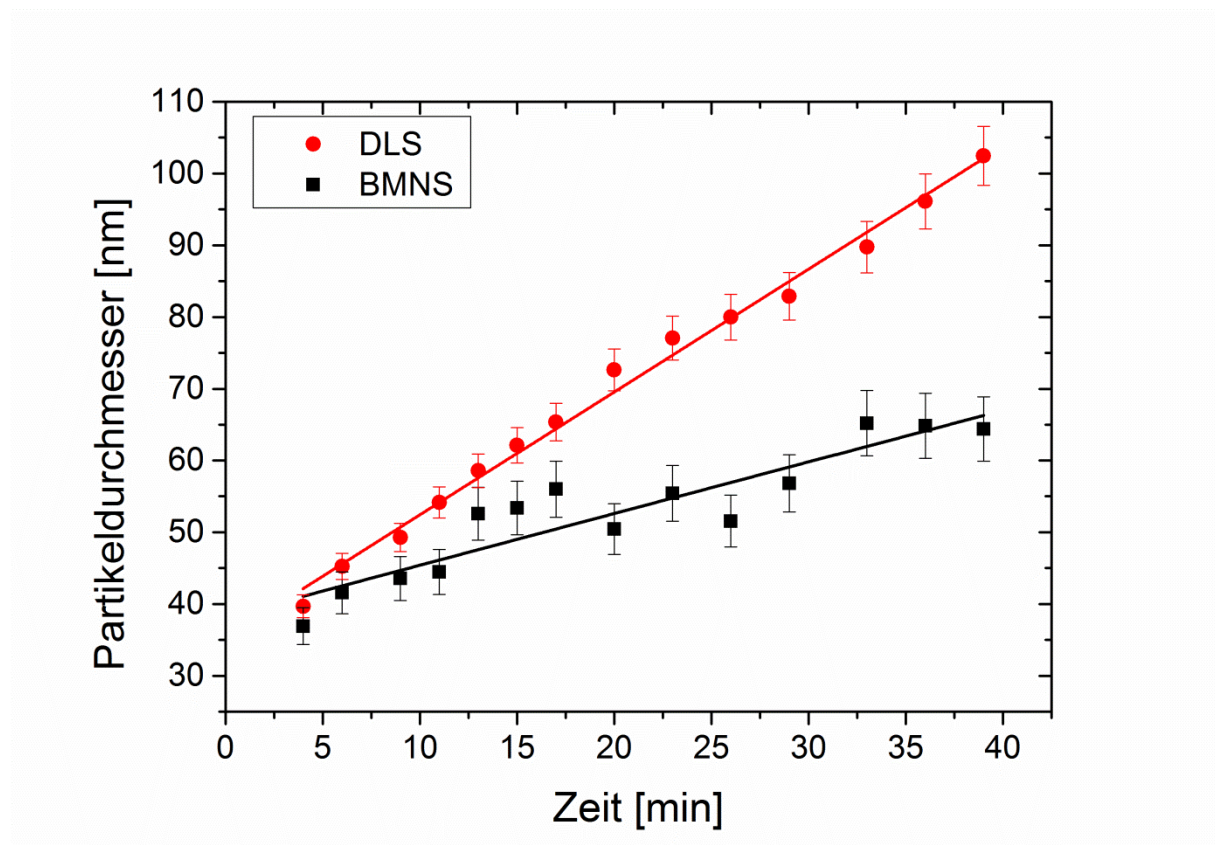


Abbildung 78: Mit dem DPS-System gemessene Partikelagglomeration in der Gewässerprobe Baldeney-See.

Aufgrund der Destabilisierung der repulsiven Barriere der beobachteten citrat-stabilisierten Silbernanopartikel zeigte sich eine zeitliche Zunahme des hydrodynamischen Radius, welche mit einer steigenden Polydispersität der kolloidalen Suspension einherging. Im Falle der Gewässerprobe des Baldeney-Sees betrug der partikuläre Zuwachs bei der Observation der thermischen Trajektionspfade $0,72 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$. Die Methode der dynamischen Lichtstreuung verzeichnete einen partikulären Zuwachs von $1,71 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$. Die folgende Tabelle zeigt die ermittelten Agglomerationsgeschwindigkeiten:

	Agglomerationsgeschwindigkeit BMNS (nm/min)	Agglomerationsgeschwindigkeit DLS (nm/min)
Baldeney-See (Essen)	0,72	1,71
Rhein-Herne-Kanal (Bottrop)	1,16	1,72
Universität-Teichanlage (Essen)	1,16	2,72
Volvic naturelle	0,17	0,45

Tabelle 8: Resultierende Agglomerationsgeschwindigkeiten der citrat-stabilisierter Silbernanopartikel nach Lee-Meisel⁽⁶⁹⁾ mit den einzelnen Gewässerproben.

Im nächsten Schritt wurden die experimentell ermittelten Daten mit denen der zuvor durchgeführten Validierungsmessung (Kapitel 4.5.2.) verglichen. Mit der Annahme, dass die relative ionenchromatographisch ermittelte Ionenkonzentration reale Konzentrationen repräsentieren sollte, wurden die ermittelten Konzentrationen anhand der resultierenden Agglomerationsgeschwindigkeit an die Validierungsmessung angepasst. Hierzu wurde die reale Ionenkonzentration anhand der hier gemessenen Agglomerationsgeschwindigkeit durch vergleichende Analyse ermittelt. Es zeigte sich, dass sich die relativen Ionenkonzentrationen zu den ermittelten realen Konzentrationen im Falle des BMNS-Teils alle durch einen konstanten Faktor von 3,63 unterschieden. Hierbei ist zu beachten, dass stabilisierende Komponenten, wie zum Beispiel Huminstoffe, nicht in die Auswertung eingehen. Einzig die Messung des Mineralwassers zeigte Abweichungen. Dies liegt daran, dass die Agglomerationsgeschwindigkeit hierbei nahe Null lag und somit keine relevante

Agglomeration beobachtet werden konnte. Die Ergebnisse dieses Verfahrens sind in der folgenden Abbildung dargestellt:

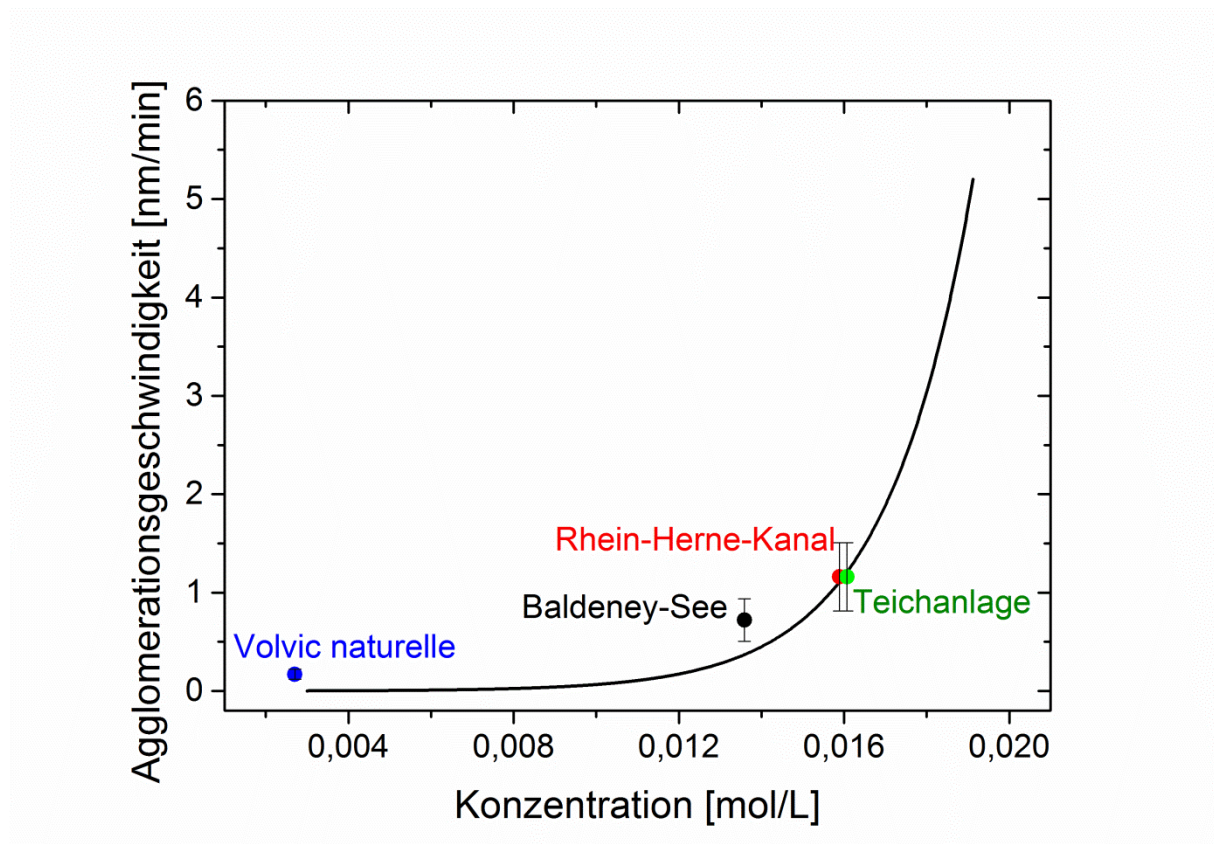


Abbildung 79: Agglomerationsmessung citrat-stabilsierter Silbernanopartikel KNO_3 (schwarze Linie (Kapitel 4.5.2. Abbildung 46)) und ermittelte reale Ionenkonzentration anhand Agglomerationsmessungen mit demselben Nanopartikelsystem in den untersuchten Gewässerproben (Datenpunkte). Die Messungen wurden mit dem BMNS-Teil des DPS-Systems durchgeführt.

Dasselbe Verfahren wurde in einem nächsten Schritt auf die aus dem DLS-Teil resultierenden Agglomerationsgeschwindigkeiten der Validierungsmessungen und der Partikel-Gewässer Messungen angewandt.

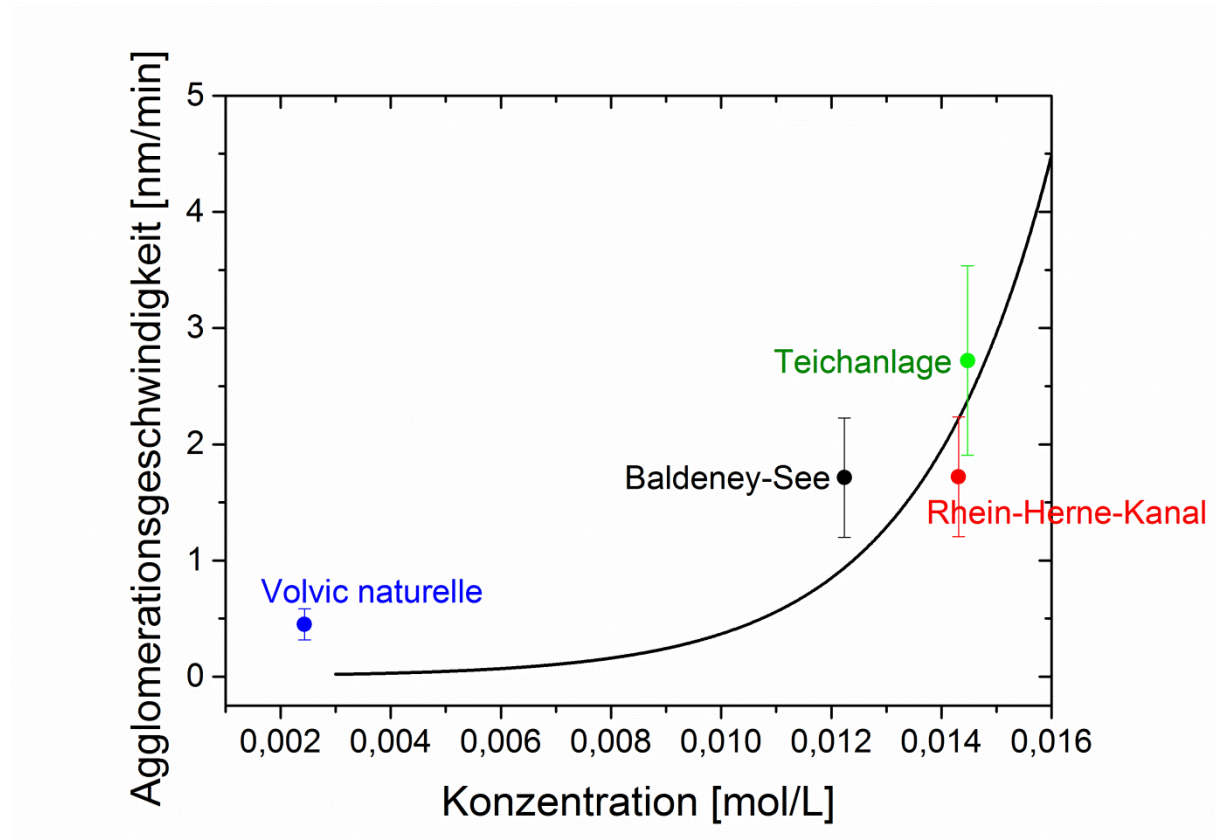


Abbildung 80: Agglomerationsmessung citrat-stabilsierter Silbernanopartikel KNO_3 (schwarze Linie (Kapitel 4.5.2, Abbildung 46)) und ermittelte reale Ionenkonzentration anhand Agglomerationsmessungen mit demselben Nanopartikelsystem in den untersuchten Gewässerproben (Datenpunkte). Die Messungen wurden mit dem DLS-Teil des DPS-Systems durchgeführt.

Im Gegensatz zu der vergleichenden Analyse der Observation der einzelnen Trajektionspfade zeigte die Messung der dynamischen Lichtstreuung stärkere Abweichungen. Diese lassen sich vermutlich teilweise auf eventuell vorhandenen Schwebstoffe zurückführen. Zudem bilden die Kolloide, bedingt durch die auftretende Agglomeration, fraktale Agglomerate aus, was die Heterogenität und somit auch die Polydispersität stark beeinflusst.

Mit den so evaluierten Daten des umgebenden Systems sowie der verwendeten Partikelsuspension war es nun möglich ein, auf der DLVO-Theorie basierende, Simulation durchzuführen. Hierzu wurden erneut die Parameter dieser, ebenfalls in Kapitel 4.5.2., verwendeten Charge citrat-stabilsierter Silbernanopartikel herangezogen. Als beispielhaftes Gewässer wurde die höchste resultierende Ionenkonzentration der Teichanlage von $0,0160 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ gewählt. Durch Variation des Zeta-Potentials sollte gezeigt werden, wie stabil die

Partikel sein müssten, um bei dieser Ionenkonzentration eine intakte repulsive Barriere zu besitzen. Das Ergebnis dieser Simulation ist in der folgenden Abbildung dargestellt:

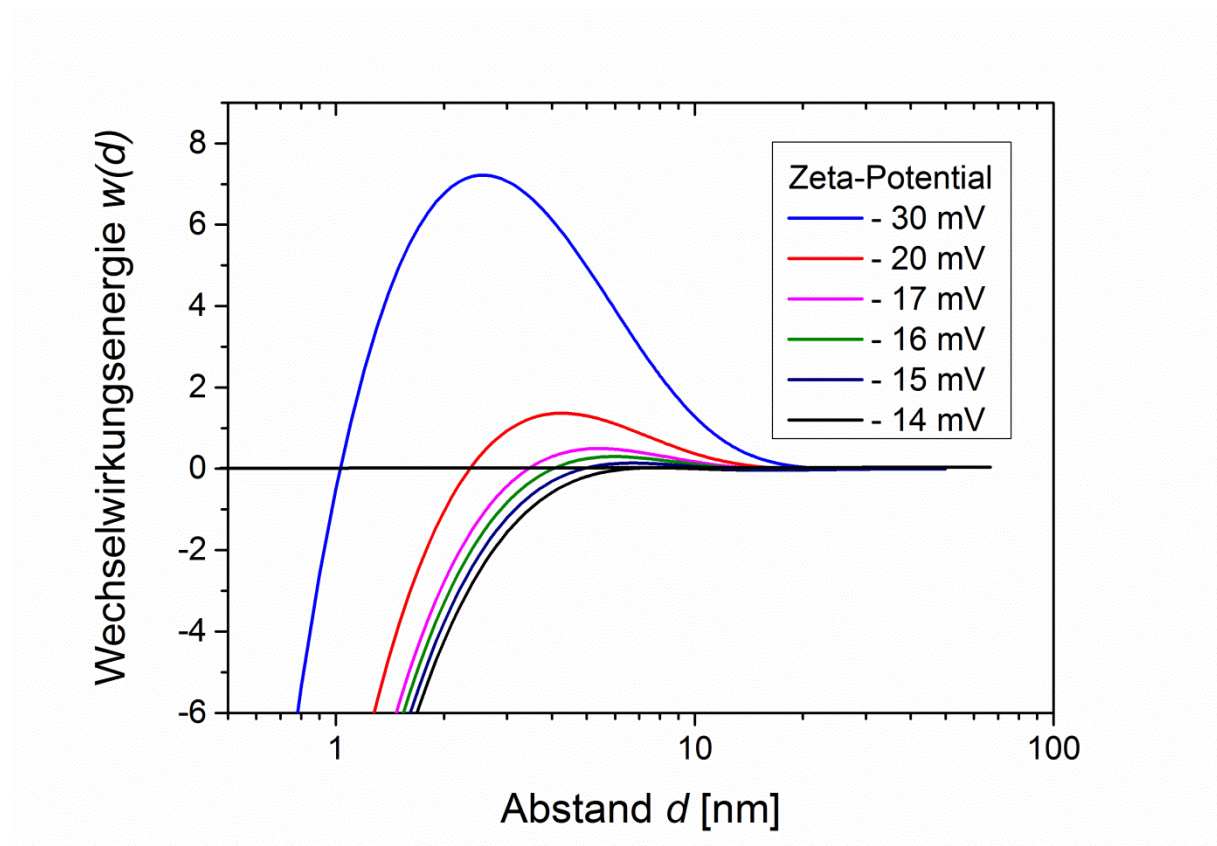


Abbildung 81: In der vermessenen Teichanlage der Universität Duisburg-Essen mit der Software Hamaker 2.2⁽¹⁵⁸⁾ simulierte citrat-stabilisierte Silbernanopartikel mit unterschiedlich starken repulsiven Barrieren. Die berechnete relative Wechselwirkungsenergie wurde auf $k_B \cdot T$ normiert

Anhand der in Abbildung 81 durchgeführten Simulation lässt sich erkennen, dass citrat-stabilisierte Silbernanopartikel ab einem Zeta-Potential von circa -20 mV in den vermessenen Gewässern eine intakte repulsive Barriere besitzen.

5.5.4. Zusammenfassung der Ergebnisse

Anhand dieser Experimente konnte ein möglicher Ansatz zur Beurteilung der Stabilität und der daraus resultierenden Mobilität mit dem neu entwickelten DPS-System gezeigt werden. Es wurden Agglomerationsgeschwindigkeiten in Gewässern bestimmt und mit zuvor validierend durchgeführten salzinduzierten Agglomerationsmessungen verglichen. Hierbei zeigte sich, dass die anzahlgewichteten Methode (BMNS) eine sehr gute Übereinstimmung lieferte. Dies drückte sich durch den konstanten Faktor der relativ ermittelten Ionenkonzentrationen von F^- , Cl^- , NO_3^- und SO_4^{2-} zu der anhand der Validierungsmessungen vermutete reale Konzentration aus. Somit konnte ein Modell entwickelt werden, um die Stabilität und somit die Mobilität von Nanopartikeln abschätzen zu können. Anhand dieser hier vorgestellten Methode und mit der entwickelten Apparatur können zukünftig wesentlich genauere Aussagen über die Mobilität von Nanopartikeln in verschiedenen Gewässern getätigt werden.

Die Methode der DLS lieferte hingegen bei dem verfahren der Ionengewichtung abweichende Ergebnisse. Eine mögliche Erklärung liefert hier die steigende Polydispersität der vermessenen kolloidalen Suspension. Aber auch eventuell vorhandene Schwebstoffe bieten eine mögliche Erklärung. Dennoch lässt sich anhand der aufgenommen Daten eine tendenzielle Proportionalität zwischen Agglomerationsgeschwindigkeit und Ionenstärke erkennen.

6. Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurden neue apparative und methodische Ansätze entwickelt, um Nanopartikel und ihre Wechselwirkungen präziser charakterisieren zu können. Es wurde eine Apparatur entwickelt, welche die Vorteile der Methoden der dynamische Lichtstreuung und der Observation der thermischen Trajektionspfade kombiniert und deren Nachteile minimiert. Zudem wurden methodische Ansätze entwickelt, um die Stabilität von nanopartikulären Komponenten genau bestimmen zu können und somit die möglichen Wechselwirkungen und Expositionsrouten mit erhöhter Präzision zu evaluieren.

Die in dieser Arbeit durchgeführte Aufklärung der unterschiedlichen Einflüsse verschiedener ionischer Komponenten auf das Agglomerationsverhalten von Silbernanopartikeln liefert ein verbessertes Verständnis des Agglomerationsprozesses. Dort, wo die präzise Kenntnis und Kontrolle des Agglomerationszustandes wichtig ist, ist das Wissen über molekulare Faktoren, welche sich auf die Kinetik der Agglomeration auswirken, von vorrangigem Interesse. Zudem konnte gezeigt werden, dass größere Moleküle, wie beispielsweise Proteine, die salzinduzierte Agglomeration von ladungsstabilisierten Nanopartikeln verhindern können. Mit dem hier entwickelten Modellen zur Bestimmung der Bindungsaffinitäten von stabilisierenden Molekülen sowie die präzise Evaluation des Ligandenaustausch von auf der nanopartikulären Oberfläche adsorbierten Molekülen ebnet den Weg zu einem besseren Verständnis der möglichen Eintragsrouten von Nanopartikeln in umweltrelevante und biologische Systemen. Um zukünftig präzise Daten über diese Effekte zu erhalten, bedarf es der Durchführung mehrerer Studien mit einer größeren Variabilität an ionischen Komponenten und unterschiedlichen relevanten Molekülen mit verschiedenen Nanopartikelspezies.

Des Weiteren wurden anhand des neu entwickelten DPS-Systems, neue Möglichkeiten zur Evaluierung der Stabilität von Nanopartikeln in Realproben konzipiert und es wurde eine mögliche Herangehensweise zur Untersuchung von Nanopartikeln in natürlichen und urbanen Gewässern vorgestellt. Die hier dargestellte Herangehensweise sowie das neu entwickelte DPS-System ebnet den Weg für zukünftige Analysen potentieller Expositionsrouten von partikulären Komponenten.

Zukünftig müssen weitere evaluierende Messungen durchgeführt werden, da die repulsive Barriere nanopartikulärer Komponenten sich im Verlauf der Jahreszeiten ändern kann. So herrschen im Winter ganz andere Bedingungen als im Sommer. Die Gewässer besitzen

während der einzelnen Jahreszeiten unterschiedliche Temperaturen aber auch unterschiedliche chemische Zusammensetzungen. So ist es beispielsweise möglich, dass im Herbst, bedingt durch den erhöhten Abbau pflanzlicher Komponenten, verstärkt Fulvin- und Huminsäuren gebildet werden. Diese könnten dann auf der Partikeloberfläche adsorbieren und würden somit zu einem Ligandenaustausch mit einer resultierenden besseren sterischen oder elektrosterischen Stabilisierung führen. Auch der wechselnde Metabolismus der einzelnen Gewässer-Spezies im Tag/Nacht-Zyklus besitzt einen Einfluss auf das betrachtete System.

Ein weiterer, wichtiger Faktor ist die auftretende orthokinetische Agglomeration in Fließgewässern. Auch hier wird, bedingt durch die erhöhte Stoßenergie der einzelnen Partikel untereinander, die repulsiv wirkende Energiebarriere schneller überwunden als bei der hier betrachteten perikinetischen Agglomeration. Hier könnte zukünftig untersucht werden, in welchem Maße sich die Fließgeschwindigkeit auf die Kinetik des Agglomerationsprozesses auswirkt.

Zudem sind die in der Umwelt und an den Stellen der Partikelexposition vermuteten Partikelkonzentrationen wesentlich geringer als die in diesen Experimenten verwendete Konzentration. Es ist somit wahrscheinlich, dass ein großer Teil der in die Umwelt emittierten Partikel zunächst auf größere Kompartimente, wie beispielsweise Algen, trifft. In einer weiteren Reihe müssten nun die Wechselwirkungen von Partikeln mit größeren biologischen Oberflächen genauer untersucht werden.

Das in dieser Arbeit entwickelte DPS-System und die neuartigen methodischen Ansätze zur Evaluation der Stabilität von Nanopartikeln in Gewässern und die damit verbundene Mobilität ebnen den Weg zu einer wesentlich präziseren Kenntnis der vorliegenden kolloidalen Suspension sowie deren Wechselwirkungen mit biologischen und umweltrelevanten Spezies. Diese präzise Kenntnis soll zudem zu einem kontrollierten und sinnvollen Einsatz von Nanopartikeln führen, um unnötige Kontaminierungen und die damit einhergehende Dispergierung der verwendeten Rohstoffe in Umweltkompartimenten zu reduzieren.

7. Einheiten und Symbole

7.1. Fundamentale Konstanten

Konstante	Symbol	SI-Einheit
Avogadro Konstante	N_A	$6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
Boltzmann Konstante	k_B	$1,381 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$
Allgemeine Gaskonstante	R	$8,31446 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Ladung eines Elektrons	q_e	$-1,602 \cdot 10^{-19} \text{ C}$
Planck'sche Konstante	h	$6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$
Permittivität des Vakuums	ϵ_0	$8,854 \cdot 10^{-12} \text{ F} \cdot \text{m}^{-1}$

7.2. Einheiten

Symbol	Bezeichnung	SI-Einheit
A	Fläche	m^2
A_H	Hamaker-Konstante	J
C_x	Streuquerschnitt	m^2
c	Konzentration	$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
d	Abstand	m
D	Diffusionskoeffizient	$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
d_H	hydrodynamischer Durchmesser	m
d_w	Strahldurchmesser	m
E	elektrische Feldstärke	$\text{V} \cdot \text{m}^{-1}$
F	Kraft	N
f_i	Brennweite	m
G_S	Scherkraft	N
G	Gibbs-Energie	$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$
H	Enthalpie	$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$
I	Intensität	$\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$
J	Teilchenfluss	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
k	Wellenzahl	m^{-1}
k_a	Kollisionskoeffizient	$\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$
K_D	Dissoziationskonstante	$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
N	Teilchenanzahldichte	$\text{l} \cdot \text{m}^{-3}$
p	Dipolmoment	$\text{C} \cdot \text{m}$
P_{os}	Osmotische Druck	Pa
q	Streuvektor	$\text{l} \cdot \text{m}^{-1}$
Q	Ladung	C
r, x, a	Radius	m
r_H	hydrodynamischer Radius	m
S	Entropie	$\text{J} \cdot \text{K}^{-1}$
T	Temperatur	K
t, τ	Zeit	s
t_a	Halbwertszeit	s

V	Volumen	m^3
v	Geschwindigkeit	$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$
W	Streuleistung	W
w	Energie	J
w_f	Fokusbereich	m
α	Polarisierbarkeit	$\text{C}\cdot\text{m}^2\cdot\text{J}^{-1}$
ε	Dielektrizitätskonstante	$\text{F}\cdot\text{m}^{-1}$
η	dynamische Viskosität	$\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$
$\theta, \varphi, \Omega, \Theta$	Winkel	°
κ	Debye-Länge	m
λ	Wellenlänge	m
ν_i	Lichtfrequenz	Hz
$\pi_{a,i}$	Hertz-Debye-Potential	V
ρ	Dichte	$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$
ρ_0	Gegenionendichte	m^{-3}
ρ_1, ρ_2	Teilchenzahldichte	m^{-3}
ρ_e	Elektronenanzahldichte	m^{-3}
ψ	Potential des elektrischen Feldes	V

7.3. Dimensionslose Einheiten und Funktionen

Symbol	Einheit/Funktion
a_n, b_n, c_n, d_n	Koeffizienten der Streuwelle
B	Konstante der Massendimension
C	Wechselwirkungsparameter
D_M	fraktale Massendimension
f	Reibungskoeffizient
g_1	normierte Korrelationsfunktion der elektrischen Feldes
G_1	intensitätsgewichtete Größenverteilung
g_2	normierte Korrelationsfunktion der Intensität
H_n	Hankel-Funktion
i	initiale Partikelanzahl
m	Brechungsindex
n_{Hill}	Hill-Koeffizient
P_n	Legendresches Polynom
Q_{sca}	Streuereffizienz
V_G	Vergrößerung
W_x	Wahrscheinlichkeit
z	Ionenladung
Γ'	Erwartungswert der Verteilungsfunktion
ϑ_S	Bedeckungsgrad
Φ	Volumenfraktion
ψ_n, ξ_n	Ricatti-Bessel-Funktion

8. Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Reinhard Zellner und PD Dr. Lennart Treuel für die Möglichkeit dieses interessante und vielfältige Thema mit größtmöglicher Freiheit zu bearbeiten bedanken. Ich bin dankbar, dass ich dieses in einer angenehmen und produktiven Atmosphäre bearbeiten konnte. PD Dr. Lennart Treuel möchte ich für die umfangreiche Betreuung und die vielen kreativen und hilfreichen Diskussionen danken.

Ebenso möchte ich mich bei der Deutschen Bundesstiftung Umwelt (DBU) für die finanzielle Unterstützung und bei Dr. Hans-Christian Schäfer und Dr. Maximilian Hempel für die freundliche Unterstützung bedanken.

Besonderen Dank gilt meinen Kollegen Dipl.-Chem. Stefan Graß, PD Dr. Holger Somnitz, Dipl.-Chem. Marcelina Malissek und M. Sc. Andreas Peckhaus die mir immer mit Rat und Tat zur Seite standen.

Herrn Prof. Dr. Matthias Epple, Herrn Prof. Dr. Manfred Köller, Dr. Jörg Diendorf und Dr. Christina Greulich möchte ich für die produktiven und interessanten Diskussionen, die gemeinsam durchgeführten Experimente und die Nanopartikelsynthesen danken. Frau Ursula Giebel danke ich für die Anfertigungen der REM-Aufnahmen.

Dr. Christian Notthoff, Dipl.-Chem. Alice Sandmann und Dr. Wolfgang Schupp möchte ich für die professionelle Hilfe bei technischen Fragen zur dynamischen Lichtstreuung danken.

Des Weiteren danke ich Dr. Maike Cyris und Dipl.-Chem. Alexandra Beermann für die tatkräftige Unterstützung bei den Analysen der Gewässerproben.

9. Literaturverzeichnis

- 1 Sellers, K., Mackay, C., Bergeson, L. L., Clough, S. R., Hoyt, M., Chen, J., Henry, K. & Hamblen, J. *Nanotechnology and the Environment*. (CRC Prss Taylor & Francis Group, **2009**).
- 2 Nowack, B. & Bucheli, T. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *J. Envpol.* 150, 5-22, (**2007**).
- 3 Biswas, P. & Wu, C. Y. Nanoparticles and the environment *J. Air Waste Manag.* 55, 708-746, (**2005**).
- 4 Dusseiller, M. R. *Fallstudie Mikrosysteme 2012*. (**2012**).
- 5 Autumn, K., Liang, Y., Hsieh, S., Zesch, W., Chan, W., Kenny, T., Fearing, R. & Full, R. Adhesive force of a single gecko foot-hair. *Nature* 405, 681-684, (**2000**).
- 6 Biró, L., Kertész, K., Vértesy, Z., Márk, G., Bálint, Z., Lousse, V. & Vigneron, J. Living photonic crystals: Butterfly scales - Nanostructures and optical properties. *Mater. Sci. Eng. C* 27, 941-946, (**2007**).
- 7 Barthlott, W. & Neinhuis, C. Purity of the sacred lotus, or escape from contamination in biological surfaces. *Planta* 202, 1-8, (**1997**).
- 8 Chalmeau, J., Dagkessamanskaia, A., Le Grimmelc, C., Francois, J. M., J., S. & Vieu, C. Contribution to the elucidation of the structure of the bacterial flagellum nano-motor through AFM imaging of the M-Ring. *Ultramicroscopy* 109, 845-853, (**2009**).
- 9 Semo, E., Kesselman, E., Danino, D. & Livney, Y. Casein micelle as a natural nano-capsular vehicle for nutraceuticals. *Food Hydrocolloids* 21, 936-942, (**2007**).
- 10 Taniguchi, N. *On the Basic Concept of 'Nano-Technology'*. (**1974**).
- 11 Binning, G., Rohrer, H., Gerber, C. & Weibel, E. Tunneling through a controllable vacuum gap. *Appl. Phys. Lett.* 40, 178-180, (**1982**).
- 12 Edwards, M. F. & Instone, T. Particulate products - their manufacture and use. *Powder Technol.* 119, 9-13, (**2001**).
- 13 Shefer, S. & Shefer, A. Controlled release systems for skin care applications. *J. Cosmet. Sci.* 52, 350-353, (**2001**).
- 14 Spiertz, C. & Korstanje, C. A method for assesing the tactile properties of dermatological cream bases. *J. Dermatol. Treatment* 6, 155-157, (**1995**).
- 15 Zhou, S., Varughese, B., Eichhorn, B., Jackson, G. & McIlwrath, K. Pt-Cu Core-Shell and Alloy Nanoparticles for Heterogeneous NO_x Reduction: Anomalous Stability and Reactivity of a Core-Shell Nanostructure. *Angew. Chem.* 117, 4615-4619, (**2005**).
- 16 Tanaka, H., Uenishi, M., Taniguchi, M., Tan, I., Narita, K., Kimura, M., Kaneko, K., Nishihata, Y. & Mizuki, J. I. The intelligent catalyst having the self-regenerative function of Pd, Rh and Pt for automotive emissions control. *Catal. Today* 117, 321-328, (**2006**).
- 17 Höpker, K. A., Wurster, U., Kunigkeit, G. & Ott, G. *Anwendung von Nanopartikeln*. (LUBW **2007**).
- 18 Sun, X., Rossin, R., Turner, J. L., Becker, M. L., Joralemon, M. J., Welch, M. J. & Wooley, K. L. An assessment of the effects of shell cross-linked nanoparticle size, core composition, and surface PEGylation on in vivo biodistribution. *Biomacromol.* 6, 2541-2554, (**2005**).
- 19 Ansari, S. A. & Husain, Q. Potential applications of enzymes immobilized on/in nano materials: A review. *Biotech. Adv.* 30, 512-513, (**2012**).
- 20 Gan, L., Heggen, M., O'Malley, R., Theobald, B. & Strasser, P. Understanding and controlling nanoporosity formation for improving the stability of bimetallic fuel cell catalysts. *Nano Lett.* 13, 1131-1138, (**2013**).
- 21 Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D. & Alvarez, P. J. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Res.* 42, 4591-4602, (**2008**).
- 22 Jackson, E. A. & Hillmyer, M. A. Nanoporous membranes derived from block copolymers: From drug delivery to water filtration. *ACS Nano* 4, 3548-3553, (**2010**).

- 23 www.nanotechproject.org.
- 24 Chernousova, S. & Epple, M. Silber als antibakterielles Agens: Ion, Nanopartikel, Metall. *Angew. Chem.* 125, 1678-1696, (2013).
- 25 Limbach, L. K., Bereiter, R., Müller, E., Krebs, R., Gälli, R. & Stark, W. J. Removal of Oxide Nanoparticles in a Model Wastewater Treatment Plant: Influence of Agglomeration and Surfactants on Clearing Efficiency. *Environ. Sci. Technol.* 42, 5828-5833, (2008).
- 26 Jones, N., Ray, B., Ranjit, K. T. & Manna, A. C. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS microbio. lett.* 279, 71-76, (2007).
- 27 Choi, O. & Hu, Z. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Env. Sci. Technol.* 42, 4583-4588, (2008).
- 28 Lee, C., Kim, J. Y., Lee, W. I., Nelson, K. L., Yoon, J. & Sedlak, D. L. Bactericidal effect of zero-valent iron nanoparticles on Escherichia coli. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4927-4933, (2008).
- 29 Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D. & Surampalli, R. Y. Engineered nanoparticles in wastewater and wastewater sludge-evidence and impacts. *Waste Manage.* 30, 504-520, (2010).
- 30 Oberdörster, G. Pulmonary effects of inhaled ultrafine particles. *International archives of occupational and environmental health* 74, 1-8, (2000).
- 31 Zhu, Y., Hinds, W. C., Kim, S. & Sioutas, C. Concentration and size distribution of ultrafine particles near a major highway. *J. Air Waste Manage* 52, 1032-1042, (2002).
- 32 Neuberger, M. in *nano - Chancen und Risiken aktueller Technologien* 181-197 (Springer 2007).
- 33 Krug, N. Mechanismen ultrafeiner Partikel. *Gefahrstoffe – Reinhalt. Luft* 65, 459-461, (2005).
- 34 Mueller, N. C. & Nowack, B. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4447-4453, (2008).
- 35 Hopstock, K. & Sures, B. in *Elements and their compounds in the environment* (ed E. Merian, Anke, M., Inhat, M., Stoeppler, M.) 1047-1086 (Wiley-VCH, 2004).
- 36 Kittelson, D. B. Engines and nanoparticles: a review. *J. Aerosol Sci.* 29, 575-588, (1998).
- 37 Nativo, P., Prior, I. A. & Brust, M. Uptake and intracellular fate of surface-modified gold nanoparticles. *ACS Nano* 2, 1639-1644, (2008).
- 38 Duncan, B., Kim, C. & Rotello, V. M. Gold nanoparticle platforms as drug and biomacromolecule delivery systems. *J. Controlled Release* 148, 122-127, (2010).
- 39 Verma, A. & Stellacci, F. Effect of surface properties on nanoparticle-cell interactions. *Small* 6, 12-21, (2010).
- 40 Verma, A., Uzun, O., Hu, Y., Hu, Y., Han, H.-S., Watson, N., Chen, S., Irvine, D. J. & Stellacci, F. Surface-structure-regulated cell-membrane penetration by monolayer-protected nanoparticles. *Nat. Mater.* 7, 588-595, (2008).
- 41 Kittler, S., Greulich, C., Köller, M. & Epple, M. Synthesis of PVP-coated silver nanoparticles and their biological activity towards human mesenchymal stem cells. *Materialwiss. Werkstofftech.* 40, 258-264, (2009).
- 42 Greulich, C., Kittler, S., Epple, M., Muhr, G. & Köller, M. Studies on the biocompatibility and the interaction of silver nanoparticles with human mesenchymal stem cells (hMSCs). *Langenbecks Arch. Surg.* 394, 495-502, (2009).
- 43 Kittler, S., Greulich, C., Gebauer, J. S., Diendorf, J., Treuel, L., Ruiz, L., Gonzalez-Calbet, J. M., Vallet-Regi, M., Zellner, R., Köller, M. & Epple, M. The influence of proteins on the dispersability and cell-biological activity of silver nanoparticles. *J. Mater. Chem.* 20, 512-518, (2010).
- 44 Lewinski, N., Colvin, V. & Drezek, R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small* 4, 26-49, (2007).
- 45 Hussain, S. M., Hess, K. L., Gearhart, J. M., Geiss, K. T. & Schlager, J. J. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol. in Vitro* 19, 975-984, (2005).

- 46 Braydich-Stolle, L., Hussain, S., Schlager, J. J. & Hofmann, M.-C. In Vitro Cytotoxicity of Nanoparticles in Mammalian Germline Stem Cells. *Toxicol. Sci.* 88, 412-419, (2005).
- 47 Carlson, C., Hussain, S. M., Schrand, A. M., Braydich-Stolle, L., Hess, K. L., Jones, R. L. & Schlager, J. J. Unique Cellular Interaction of Silver Nanoparticles: Size-Dependent Generation of Reactive Oxygen Species. *J. Phys. Chem. B* 112, 13608-13619, (2008).
- 48 Lee, K. J., Nallathamby, P. D., Browning, L. M., Osgood, C. J. & Xu, X.-H. N. In Vivo Imaging of Transport and Biocompatibility of Single Silver Nanoparticles in Early Development of Zebrafish Embryos. *ACS nano* 1, 133-143, (2007).
- 49 Reeves, J. F., Davies, S. J., Dodd, N. J. F. & Jha, A. N. Hydroxyl radicals (OH) are associated with titanium dioxide (TiO₂) nanoparticle-induced cytotoxicity and oxidative DNA damage in fish cells. *Mutat. Res.-Fund. Mol. M.* 640, 113-122, (2008).
- 50 Federici, G., Shaw, B. J. & Handy, R. D. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquat. Toxicol.* 84, 415-430, (2007).
- 51 Cedervall, T., Hansson, L. A., Lard, M., Frohm, B. & Linse, S. Food Chain Transport of Nanoparticles Affects Behaviour and Fat Metabolism in Fish. *PLOS ONE* 7, 32254, (2012).
- 52 Zhao, C. & Wang, W. Comparison of acute and chronic toxicity of silver nanoparticles and silver nitrate to *Daphnia magna*. *Environ. Tox. Chem.* 30, 885-892, (2011).
- 53 Wu, Y. Q., Zhao, B., Xu, W. Q., Li, B. F., Jung, Y. M. & Ozaki, Y. Near-infrared surface-enhanced Raman scattering study of ultrathin films of azobenzene-containing long-chain fatty acids on a silver surface prepared by silver mirror and nitric acid etched silver foil methods. *Langmuir* 15, 4625-4629, (1999).
- 54 Dimkpa, C. O., Calder, A., Britt, D. W., Mclean, J. E. & Anderson, A. J. Responses of a soil bacterium, *Pseudomonas chlororaphis* O₆ to commercial metal oxide nanoparticles compared with responses to metal ions. *Environ. Poll.* 159, 1749-1756, (2011).
- 55 Klaine, S., Alvarez, P., Batley, G., Fernandes, T., Handy, R., Lyon, D., Mahendra, S., McLaughlin, M. & Lead, J. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environ. Tox. Chem.* 27, 1825-1851, (2008).
- 56 Ogden, L. E. Nanoparticles in the Environment: Tiny Size, Large Consequences? *BioSci.* 63, 236, (2013).
- 57 Gottschalk, F., Kost, E. & Nowack, B. Engineered nanomaterials in waters and soils: A risk quantification based on probabilistic exposure and effect modeling. *Env. Tox. Chem.* DOI: 10.1002/etc.2177, (2013).
- 58 Feldheim, D. L. & Foss, C. A. *Metal Nanoparticles - Synthesis, Characterizations and Applications*. (Marcel Dekker, Inc., 2002).
- 59 Deguchi, S., Mukai, S. A., Tsudome, M. & Horikoshi, K. Facile Generation of Fullerene Nanoparticles by Hand-Grinding. *Adv. Mater.* 18, 729-732, (2006).
- 60 Tsuzuki, T. & McCormick, P. G. Mechanochemical synthesis of nanoparticles. *J. Mater. Sci.* 39, 5143-5146, (2004).
- 61 Geohegan, D. B., Puretzky, A. A., Duscher, G. & Pennycook, S. J. Time-resolved imaging of gas phase nanoparticle synthesis by laser ablation. *Appl. Phys. Lett.* 72, 2987-2989, (1998).
- 62 Barcikowski, S., Hahn, A., Kabashin, A. V. & Chichkov, B. N. Properties of nanoparticles generated during femtosecond laser machining in air and water. *Appl. Phys. A-Mater.* 87, 47-55, (2007).
- 63 Barcikowski, S., Menéndez-Manjón, A., Chichkov, B., Brikas, M. & Račiukaitis, G. Generation of nanoparticle colloids by picosecond and femtosecond laser ablations in liquid flow. *Appl. Phys. Lett.* 91, 083113-083113, (2007).
- 64 Mädler, L., Kammler, H. K., Mueller, R. & Pratsinis, S. E. Controlled synthesis of nanostructured particles by flame spray pyrolysis. *J. Aerosol Sci.* 33, 369-389, (2002).

- 65 Mueller, R., Mädler, L. & Pratsinis, S. E. Nanoparticle synthesis at high production rates by flame spray pyrolysis. *Chem. Eng. Sci.* 58, 1969-1976, **(2003)**.
- 66 Bica, I. Nanoparticle production by plasma. *Mater. Sci. Eng. B* 68, 5-9, **(1999)**.
- 67 Wegner, K., Walker, B. & Pratsinis, S. E. Metallische Nanopartikel-Kontrollierte Synthese in Heißwandreaktoren. *Chem. Ing. Tech.* 72, 971-971, **(2000)**.
- 68 Ostwald, W. Studien über die Bildung und Umwandlung fester Körper. *Z. Phys. Chem.* 22, 289-330, **(1897)**.
- 69 Lee, P. C. & Meisel, D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. *J. Phys. Chem.* 86, 3391-3395, **(1982)**.
- 70 Turkevich, J., Stevenson, P. & Hillier, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Faraday Soc.* 11, 55-75, **(1951)**.
- 71 LaMer, V. K. & Dinegar, R. H. Theory, production and mechanism of formation of monodispersed hydrosols. *J. Am. Chem. Soc.* 72, 4847-4854, **(1950)**.
- 72 Nagarajan, R. & Hatton, T. A. *Nanoparticles - Synthesis, Stabilization, Passivation and Functionalization*. (American Chemical Society, **2008**).
- 73 Harris, L. A., Goff, J. D., Carmichael, A. Y., Riffle, J. S., Harburn, J. J., Pierre, T. S. & Saunders, M. Magnetite nanoparticle dispersions stabilized with triblock copolymers. *Chem. Mater.* 15, 1367-1377, **(2003)**.
- 74 Gebauer, J. S., Malissek, M., Simon, S., Knauer, S. K., Maskos, M., Stauber, R. H., Peukert, W. & Treuel, L. Impact of the Nanoparticle-Protein Corona on Colloidal Stability and Protein Structure. *Langmuir* 28, 9673-9679, **(2012)**.
- 75 Guo, S. & Wang, E. Synthesis and electrochemical applications of gold nanoparticles. *Anal. Chim. Acta* 598, 181-192, **(2007)**.
- 76 Treuel, L., Jiang, X. & Nienhaus, G. U. New views on cellular uptake and trafficking of manufactured nanoparticles. *J. Royal Soc. Interface* 10, **(2013)**.
- 77 Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M., Somasundaran, P., Klaessig, F., Castranova, V. & Thompson, M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nat. Mater.* 8, 543-557, **(2009)**.
- 78 Nel, A., Xia, T., Mädler, L. & Li, N. Toxic Potential of Materials at the Nanolevel. *Science* 311, 622-627, **(2006)**.
- 79 Oberdörster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Karn, B., Kreyling, W., Lai, D., Olin, S., Monteiro-Riviere, N., Warheit, D. & Yang, H. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part. Fibre Toxicol.* 2, 1-35, **(2005)**.
- 80 Vertegel, A. A., Siegel, R. W. & Dordic, J. S. Silica Nanoparticle Size Influences the Structure and Enzymatic Activity of Adsorbed Lysozyme. *Langmuir* 20, 6800-6807, **(2004)**.
- 81 Malissek, M., Wolfrum, S., Damm, C., Peukert, W. & Treuel, L. Dependence of protein corona formation on nanoparticle size: Adsorption of serum albumin onto silver nanoparticles (to be submitted **2013**).
- 82 Friedländer, S. K. *Smoke, Dust and Haze: Fundamentals of Aerosol Dynamics*. (Oxford University Press, **2000**).
- 83 Bohren, C. F. & Huffman, D. R. *Absorption and Scattering of Light by Small Particles*. (John Wiley & Sons, **1983**).
- 84 van de Hulst, H. *Light Scattering by Small Particles*. (Dover Publications, Inc., **1981**).
- 85 Mie, G. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Ann. Phys.* 330, 377-445, **(1908)**.
- 86 Kerker, M. *The scattering of light and other electromagnetic radiation*. (Academic Press, Inc., **1969**).
- 87 Atkins, P. W. & De Paula, J. *Physical Chemistry*. (Oxford University Press, **2006**).
- 88 www.scatlab.org.
- 89 www.refractiveindex.info.
- 90 Jonasz, M. & Fournier, G. R. *Light Scattering by Particles in Water: Theoretical and Experimental Foundations*. (Elsevier, **2007**).

- 91 Raman, C. & Krishnan, K. A new type of secondary radiation. *Nature* 121, 501, (1928).
- 92 Le Ru, E. & Etchegoin, P. *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and related plasmonic effects*. (Elsevier Science, 2008).
- 93 Fleischmann, M., Hendra, P. J. & McQuillan, A. J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem. Phys. Lett.* 26, 163-166, (1974).
- 94 Aroca, R. *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*. (John Wiley and Sons, 2006).
- 95 Nie, S. & Emory, S. R. Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science* 275, 1102-1106, (1997).
- 96 Gebauer, J. S. & Treuel, L. Influence of individual ionic components on the agglomeration kinetics of silver nanoparticles. *J. Colloid Interface Sci.* 354, 546-554, (2011).
- 97 Kneipp, K., Kneipp, H. & Bohr, H. *Single Molecule SERS Spectroscopy in Surface Enhanced Raman Scattering - Physics and Applications*. (Springer, 2006).
- 98 Stiles, P., Dieringer, J., Shah, N. C. & Van Duyne, R. P. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Ann. Rev. Anal. Chem.* 1, 601-626, (2008).
- 99 Schlücker, S. SERS Microscopy: Nanoparticle Probes and Biomedical Applications. *Chem. Phys. Chem.* 10, 1344-1354, (2009).
- 100 Mishchenko, I., Travis, L. D. & Lacis, A. A. *Scattering, Absorption, and Emission of Light by Small Particles*. (Cambridge University Press, 2002).
- 101 Treuel, L. *On the Phase Behaviour of Binary and Ternary Aerosols*. (mbv Berlin, 2009).
- 102 Vortisch, H. *Beobachtung von Phasenübergängen in einzeln levitierten Schwefelsäuretröpfchen mittels Raman-Spektroskopie und elastischer Lichtstreuung* PhD thesis, Freie Universität Berlin, (2002).
- 103 Haar, A. Reihenentwicklungen nach Legendreschen Polynomen. *Math. Ann.* 78, 121-136, (1917).
- 104 Venables, J. A., Smith, D. J. & Cowley, J. M. HREM, STEM, REM, SEM—and STM. *Surf. Sci.* 181, 235-249, (1987).
- 105 Williams, D. B. & Carter, C. B. *Transmission electron microscopy: a textbook for materials science.*, (Springer, 2009).
- 106 Kaegi, R., Wagner, T., Hetzer, B., Sinnet, B., Tzvetkov, G. & Boller, M. Size, number and chemical composition of nanosized particles in drinking water determined by analytical microscopy and LIBD. *Water Res.* 42, 2778-2786, (2008).
- 107 Liu, J. Scanning transmission electron microscopy and its application to the study of nanoparticles and nanoparticle systems. *J. Electron Microsc.* 54, 251-278, (2005).
- 108 Peukert, W., Schwarzer, H. C., Gotzinger, M., Gunther, L. & Stenger, F. Control of particle interfaces-the critical issue in nanoparticle technology. *Adv. Powder Technol.* 14, 411-426, (2003).
- 109 Wagner, T. *Kolloidchemie in aquatischen Systemen* PhD thesis, Universität Regensburg, (2005).
- 110 Hassellöv, M., Readman, J. W., Ranville, J. F. & Tiede, K. Nanoparticle analysis and characterization methodologies in environmental risk assessment of engineered nanoparticles. *Ecotoxicol.* 17, 344-361, (2008).
- 111 Scott, D. J., Harding, S. E. & Rowe, A. J. *Introduction to Differential Sedimentation*. (RSC Publishing, 2005).
- 112 Brown, R. A brief account of microscopical observations made in the month on June, July and August 1828 on the particles contained in the pollen of plants and on the general existence of active molecules in organic and inorganic bodies. *Phil. Mag.* 4, 161-173, (1828).
- 113 Ryu, J. H., Bang, S. Y., Yoon, J.-W., Lim, C. S. & Shim, K. B. Pulsed laser induced synthesis of scheelite-type colloidal nanoparticles in liquid and the size distribution by nanoparticle tracking analysis. *Appl. Surf. Sci.* 253, 8408-8414, (2007).
- 114 Malloy, A. & Carr, B. Nanoparticle Tracking Analysis. *Part. Part. Syst. Charact.* 23, 197-204, (2006).

- 115 Wedler, G. *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*. (VCH, **1987**).
- 116 Einstein, A. Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Ann. Phys.* 322, 549-560, (**1905**).
- 117 Uhlenbeck, G. E. & Ornstein, L. S. On the Theory of the Brownian Motion. *Phys. Rev.* 36, 823-841, (**1930**).
- 118 Gebauer, J. S. Entwicklung und Erprobung einer Optischen Falle. *Diplomarbeit*, (**2009**).
- 119 Fick, A. On liquid diffusion. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 10, 30-39, (**1855**).
- 120 Stokes, R. H. & Robinson, R. A. Interactions in Aqueous Nonelectrolyte Solutions. I. Solute-Solvent Equilibria. *J. Phys. Chem.* 70, 2126-2131, (**1966**).
- 121 Robinson, R. A. & Stokes, R. H. *Electrolyte solutions*. (Dover Publications, **2002**).
- 122 Smoluchowski, M. S. On the practical applicability of Stokes' law of resistance, and the modification of it required in certain cases. *Proc. 5th Int. Congr. Mathem.* 2, 192, (**1912**).
- 123 Nelson, E. *Dynamical Theories of Brownian Motion*. (Princeton University Press, **1967**).
- 124 Nakoshis, P., Amoroso, M., Legere, J. & Smith, C. Measuring Boltzmann's constant using video microscopy. *Am. J. Phys.* 71, 568-573, (**2003**).
- 125 Smoluchowski, M. V. Zur kinetischen Theorie der Brownschen Molekularbewegung und der Suspensionen. *Ann. Phys.* 326, 756-780, (**1906**).
- 126 Smoluchowski, M. V. Versuch einer mathematischen Theorie der Koagulationskinetik kolloider Lösungen. *Z. Phys. Chem.* 92, 129-168, (**1917**).
- 127 Jiang, X., Weise, S., Hafner, M., Röcker, C., Zhang, F., Parak, W. J. & Nienhaus, G. U. Quantitative analysis of the protein corona on FePt nanoparticles formed by transferrin binding. *J. R. Soc. Interface* 7, 5-13, (**2010**).
- 128 Treuel, L. & Nienhaus, G. U. Toward a molecular understanding of nanoparticle-protein interactions. *Biophys. Rev.* 4, 137-147, (**2012**).
- 129 Röcker, C., Pötzl, M., Zhang, F., Parak, W. J. & Nienhaus, G. U. A quantitative fluorescence study of protein monolayer formation on colloidal nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.* 4, 577-580, (**2009**).
- 130 Ugelstad, J., Mork, P. C., Kaggerud, K. H., Ellingsen, T. & Berge, A. Swelling of oligomer-polymer particles. New methods of preparation. *Adv. Colloid Interface Sci.* 13, 101-140, (**1980**).
- 131 Zhou, C., Zhao, Y., Jao, T. C., Winnik, M. A. & Wu, C. Y. Photoinduced aggregation of polymer nanoparticles in a dilute nonaqueous dispersion. *J. Phys. Chem. B* 106, 1889-1897, (**2002**).
- 132 Gan, D. & Lyon, L. A. Tunable swelling kinetics in core-shell hydrogel nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* 123, 7511-7517, (**2001**).
- 133 Kiss, L. B., Söderlund, J., Niklasson, G. A. & Granqvist, C. G. New approach to the origin of lognormal size distributions of nanoparticles. *Nanotechnol.* 10, 25, (**1999**).
- 134 Kiss, L. B., Söderlund, J., Niklasson, G. A. & Granqvist, C. G. The real origin of lognormal size distributions of nanoparticles in vapor growth processes. *Nanostruct. Mater.* 12, 327-332, (**1999**).
- 135 Crow, E. L. & Shimizu, K. *Lognormal distributions: Theory and applications.*, (M. Dekker, **1988**).
- 136 Panáček, A., Kvítek, L., Pucek, R., Kolar, M., Vecerova, R., Pizurova, N., Sharma, V. K., Nevecna, T. & Zboril, R. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. *J. Phys. Chem. B* 110, 16248-16253, (**2006**).
- 137 Berne, B. J. & Pecora, R. *Dynamic light scattering: with applications to chemistry, biology, and physics*. (Dover Publications, **2000**).
- 138 Smoluchowski, M. *Abhandlung über die Brownsche Bewegung und verwandte Erscheinungen*. (Akademische Verlagsgesellschaft mbh, **1923**).

- 139 Koppel, D. E. Analysis of macromolecular polydispersity in intensity correlation spectroscopy: the method of cumulants. *J. Chem. Phys.* 57, 4814, (1972).
- 140 Schätzel, K. Correlation techniques in dynamic light scattering. *Appl. Phys. B* 42, 193-213, (1987).
- 141 Dhont, J. K. G. & De Kruif, C. G. Scattered light intensity cross correlation. I. Theory. *J. Chem. Phys.* 79, 1658, (1983).
- 142 Siegert, A. J. F. *Rad. Lab. Rep. Nr. 465.* (1943).
- 143 Aragon, S. R. & Pecora, R. Theory of dynamic light scattering from polydisperse systems. *J. Chem. Phys.* 64, 2395, (1976).
- 144 Landau, L. & Placzek, G. Structure of the undisplaced scattering line. *Phys. Z. Sowiet. Un.* 5, 172, (1934).
- 145 Derjaguin, B. & Landau, L. Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Acta Physico chemica URSS* 14, 633, (1941).
- 146 Verwey, E. J. W. & Overbeck, J. T. G. *Theory of the stability of lyophobic colloids.* (Elsevier, 1948).
- 147 Israelachvili, J. *Intermolecular & Surface Forces.* (Elsevier, 1991).
- 148 Berendsen, H. J. C., Grigera, J. R. & Straatsma, T. P. The missing term in effective pair potentials. *J. Phys. Chem.* 91, 6269-6271, (1987).
- 149 Hamaker, H. C. The London-van der Waals attraction between spherical particles. *Physica* 4, 1058-1072, (1937).
- 150 Casimir, H. B. G. & Polder, D. The influence of retardation on the London-van der Waals forces. *Phys. Rev.* 73, 360, (1948).
- 151 Glendinning, A. B. & Russel, W. B. The electrostatic repulsion between charged spheres from exact solutions to the linearized Poisson-Boltzmann equation. *J. Colloid Interface Sci.* 93, 95-104, (1983).
- 152 Barouch, E., Matijević, E. & Parsegian, V. A. The accuracy of the Derjaguin approximation for the electrostatic double-layer interaction between curved surfaces bearing constant potentials. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* 82, 2801-2809, (1986).
- 153 Landau, L. D. & Lifshitz, E. M. *Electrodynamics of Continuous media.* (Pergamon Press, 1984).
- 154 McLachlan, A. D. Retarded dispersion forces in dielectrics at finite temperatures. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. A* 274, 80-90, (1963).
- 155 McLachlan, A. D. Three-body dispersion forces. *Mol. Phys.* 6, 423-427, (1963).
- 156 Stern, O. Zur Theorie der elektrolytischen Doppelschicht. *Z. Elektrochem.* 30, 508-516, (1924).
- 157 Debye, P. & Hückel, E. De la theorie des electrolytes. I. abaissement du point de congelation et phenomenes associes. *Physik Z.* 24, 185-206, (1923).
- 158 Aschauer, U., Burgos-Montes, O., Moreno, R. & Bowen, P. *J. Dispersion Sci. Technol.* 32, 470-479, (2011).
- 159 Elimelech, M., Jia, X., Gregory, J. & Williams, R. *Particle deposition & aggregation: measurement, modelling and simulation.* (Butterworth-Heinemann, 1998).
- 160 Eggersdorf, M. L., Kadau, D., Hermann, H. J. & Pratsinis, S. E. Fragmentation and restructuring of soft-agglomerates under shear. *J. Colloid Interface Sci.* 342, 261-268, (2010).
- 161 Nichols, G., Byard, S., Bloxham, M., Botterill, J., Dawson, N., Dennis, A., Diart, V., North, N. & Sherwood, J. A Review of the Terms Agglomerate and Aggregate with a Recommendation for Nomenclature Used in Powder and Particle Characterization. *J. Pharm. Sci.* 91, 2103-2109, (2002).
- 162 Grass, R. N., Tsantilis, S. & Pratsinis, E. Design of High-Temperature, Gas-Phase Synthesis of hard or Soft TiO₂ Agglomerates. *AIChE J.* 52, 1318-1325, (2006).
- 163 Ludwig, P. & Peschel, G. Determination of the coagulation kinetics in silica hydrosols by photon correlation spectroscopy. *Progr. Colloid Polym. Sci.* 76, 42-46, (1988).
- 164 Higashitani, K., Kondo, M. & Hatade, S. Effect of particle size on coagulation rate of ultrafine colloidal particles. *J. Colloid Interface Sci.* 142, 204-213, (1991).

- 165 Axford, S. D. T. Aggregation of colloidal silica : Reaction-limited kernel, stability ratio and distribution moments. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 93, 303-311, **(1997)**.
- 166 Holthoff, H., Schmitt, A., Fernández-Barbero, A., Borkovec, M., Schurtenberger, P. & Hidalgo-Álvarez, R. Measurement of absolute coagulation rate constants for colloidal particles: comparison of single and multiparticle light scattering techniques. *J. Colloid Interface Sci.* 192, 463-470, **(1997)**.
- 167 Grasso, D., Subramaniam, K., Butkus, M., Strevett, K. & Bergendahl, J. A review of non-DLVO interactions in environmental colloidal systems. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 1, 17-38, **(2002)**.
- 168 Churaev, N. V. & Derjaguin, B. V. J. Inclusion of structural forces in the theory of stability of colloids and film. *J. Colloid Interface Sci.* 103, 542-553, **(1985)**.
- 169 Molina-Bolívar, J. A. & Ortega-Vinuesa, J. L. How proteins stabilize colloidal particles by means of hydration forces. *Langmuir* 15, 2644-2653, **(1999)**.
- 170 Ninham, B. W. On progress in forces since the DLVO theory. *Adv. Colloid Interface Sci.* 83, 1-17, **(1999)**.
- 171 Blokzijl, W. & Engberts, J. B. Hydrophobic effects. Opinions and facts. *Angew. Chem. Int. Ed.* 32, 1545-1579, **(2003)**.
- 172 Treuel, L., Malissek, M., Grass, S., Diendorf, J., Mahl, D., Meyer-Zaika, W. & Epple, M. Quantifying the influence of polymer coatings on the serum albumin corona formation around silver and gold nanoparticles. *J. Nanopart. Res.* 14, 1-12, **(2012)**.
- 173 Tay, K. & Bresme, F. Computer simulations of two dimensional gold nanoparticle arrays: the influence of core geometry. *Mol. Simul.* 31, 515-526, **(2005)**.
- 174 Sinyagin, A. Y., Belov, A., Tang, Z. & Kotov, N. A. Monte Carlo computer simulation of chain formation from nanoparticles. *J. Phys. Chem. B* 110, 7500-7507, **(2006)**.
- 175 Dagastine, R. R., Chau, T. T., Chan, D. Y. C., Stevens, G. W. & Grieser, F. Interaction forces between oil-water particle interfaces - Non-DLVO forces. *Faraday Discuss.* 129, 111-124, **(2004)**.
- 176 Dika, C., Ly-Chatain, M. H., Francius, G., Duval, J. F. L. & Gantzer, C. Non-DLVO adhesion of F-specific RNA bacteriophages to abiotic surfaces: Importance of surface roughness, hydrophobic and electrostatic interactions. *Colloids Surf., A*, **(2013)**.
- 177 Bradford, S. A. & Torkzaban, S. Colloid Interaction Energies for Physically and Chemically Heterogeneous Porous Media. *Langmuir* 29, 3668-3676, **(2013)**.
- 178 Bakli, C. & Chakraborty, S. Effect of presence of salt on the dynamics of water in uncharged nanochannels. *J. Chem. Phys.* 138, 054504, **(2013)**.
- 179 Jiang, J., Oberdörster, G. & Biswas, P. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *J. Nanopart. Res.* 11, 77-99, **(2009)**.
- 180 Holmberg, K. *Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry*. (Wiley, **2002**).
- 181 Agarwal, S. *Efficiency of shear-induced agglomeration of particle suspensions subjected to bridging flocculation* PhD thesis, West Virginia University, **(2002)**.
- 182 Curtis, A. & Hocking, L. Collision Efficiency of Equal Spherical Particles in a Shear Flow. *Trans. Faraday Soc.* 66, 1381-1390, **(1969)**.
- 183 Wang, G. & Sorensen, C. Experimental test of the Rayleigh-Debye-Gans theory for light scattering by fractal aggregates. *Appl. Opt.* 41, 4645-4651, **(2002)**.
- 184 Nordmeier, V. & Schlichting, H. J. *Chaos und Strukturbildung*. (Springer Berlin Heidelberg, **2007**).
- 185 Asha Rani, P. V., Low Kah Mun, G., Hande, M. P. & Valiyaveetil, S. Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells. *ACS Nano* 3, 279-290, **(2008)**.
- 186 Treuel, L., Malissek, M., Gebauer, J. S. & Zellner, R. The Influence of Surface Composition of Nanoparticles on their Interactions with Serum Albumin. *Chem. Phys. Chem.* 11, 3093-3099, **(2010)**.
- 187 Milne, G. *Optical Sorting and Manipulation of Microscopic Particles* PhD thesis, University of St. Andrews, **(2007)**.
- 188 Nordlund, I. Z. *Phys. Chem.* 87, 40-62, **(1914)**.

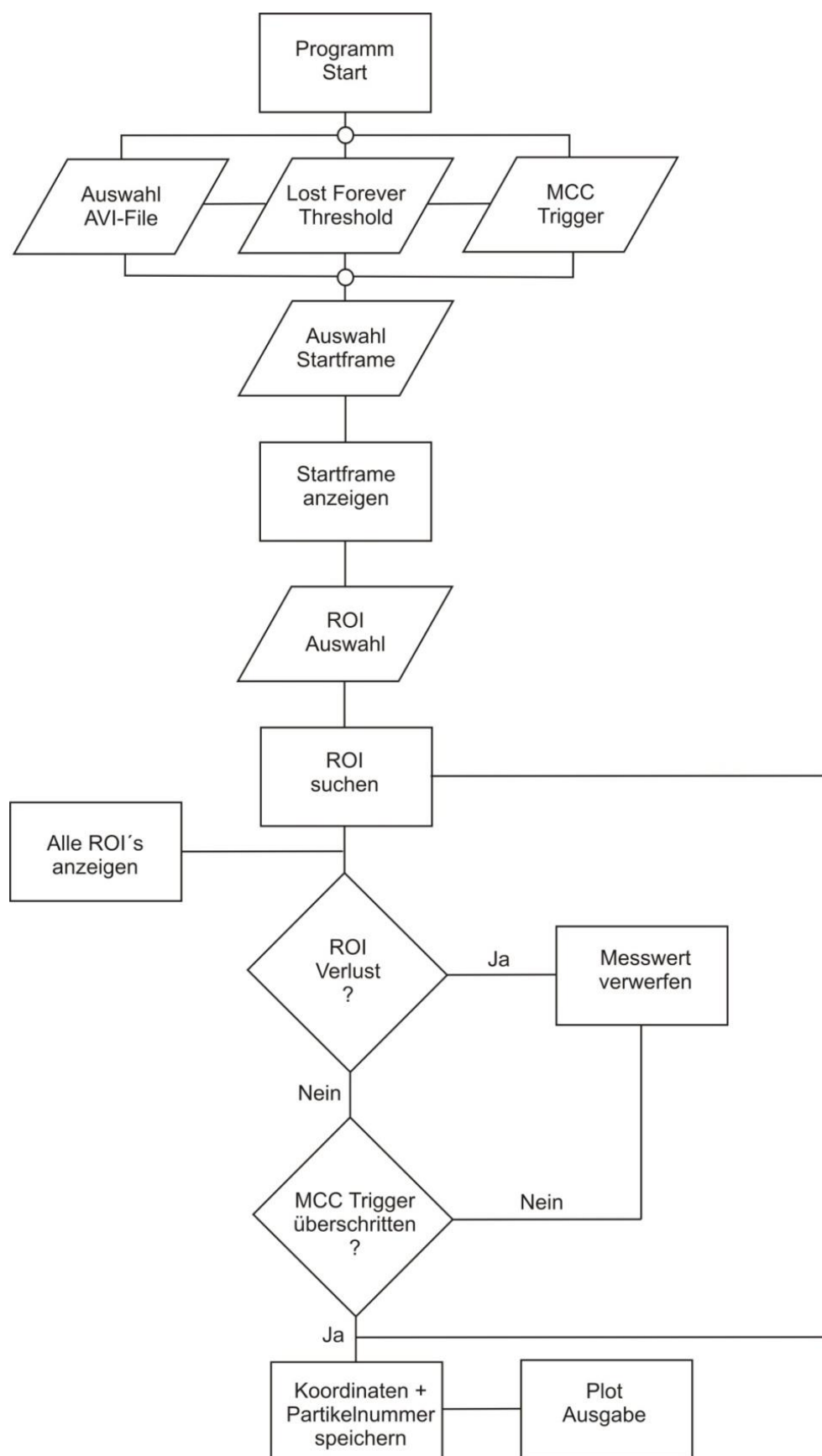
- 189 Finder, C., Wohlgemuth, M. & Mayer, C. Analysis of Particle Size Distribution by Particle Tracking. *Part. Part. Syst. Char.* 21, 372-378, (2004).
- 190 Haferkorn, H. *Optik*. (Wiley-VCH, 2003).
- 191 Hecht, E. *Optik*. (Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH, 2009).
- 192 Meschede, D. *Optik, Licht und Laser*. (Vieweg + Teubner, 2008).
- 193 Schabel, W. Inverse Mikro-Raman-Spektroskopie - Eine neue Messmethode zur Untersuchung lokaler Stofftransportvorgänge in dünnen Filmen, Folien und Membranen. *Chem. Ing. Tech.* 77, 1915-1926, (2005).
- 194 Brown, R. G. W. & Smart, A. E. Practical considerations in photon correlation experiments. *Appl. Opt.* 36, 7480-7492, (1997).
- 195 www.gnuplot.info.
- 196 Mahl, D. *Synthese, Löslichkeit und Stabilität von Gold-Nanopartikeln in biologischen Medien* PhD thesis, Universität Duisburg-Essen, (2011).
- 197 www.photofiltre.softonic.de.
- 198 Kirby, B. J., Ernest, F. & Hasselbrink, J. Zeta potential of microfluidic substrates: 1. Theory, experimental techniques, and effects on separations. *Electrophoresis* 25, 187-202, (2004).
- 199 Pinchuk, A. O. Size-Dependent Hamaker Constant for Silver Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* 116, 20099-20102, (2012).
- 200 Strubbe, F., Beunis, F. & Neyts, K. Detection of Elementary Charges on Colloidal Particles. *Phys. Rev. Lett.* 100, 218301, (2008).
- 201 Chen, I. Particle Charges in Nonaqueous Colloidal Dispersions. *Langmuir* 12, 3437-3441, (1996).
- 202 Turkevich, J. Colloidal Gold. Part II. *Gold Bull.* 18, 125-131, (1985).
- 203 Tirado-Miranda, M., Haro-Pérez, C., Quesada-Pérez, M., Callejas-Fernández, J. & Hidalgo-Álvarez, R. Effective charges of colloidal particles obtained from collective diffusion experiments. *J. Colloid and Interface Sci.* 263, 74-79, (2003).
- 204 Kittler, S., Greulich, C., Diendorf, J., Koeller, M. & Eppler, M. The toxicity of silver nanoparticles increases during storage due to slow dissolution under release of silver ions. *Chem. Mater.* 22, 4548-4554, (2010).
- 205 Lide, D. R. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. (CRC Press, 1997).
- 206 Treuel, L., Butler, J. R., Hargreaves, G. & Reid, J. P. Probing the Equilibrium Size and Hydrogen Bonding Structure in Aqueous Aerosol Droplets. *Z. Phys. Chem.* 224, 1185-1204, (2010).
- 207 Bakker, H. J. & Skinner, J. L. Vibrational spectroscopy as a probe of structure and dynamics in liquid water. *Chem. Rev.* 110, 1498-1517, (2010).
- 208 Li, R., Jiang, Z., Chen, F., Yang, H. & Guan, Y. Hydrogen bonded structure of water and aqueous solutions of sodium halides: a Raman spectroscopic study. *J. Mol. Struct.* 707, 83-88, (2004).
- 209 Carey, D. M. & Korenowski, G. M. Measurement of the Raman spectrum of liquid water. *J. Chem. Phys.* 108, 2669-2675, (1998).
- 210 Walrafen, G. E. Raman Spectral Studies of Water Structure. *The Journal of Chemical Physics* 40, 3249-3256, (1964).
- 211 Whalley, E. A detailed assignment of the O-H stretching bands of ice I. *Can. J. Chem.* 55, 3429-3441, (1977).
- 212 Walrafen, G. E. Raman Spectral Studies of the Effects of Electrolytes on Water. *J. Chem. Phys.* 36, 1035-1042, (1962).
- 213 Walrafen, G. E. Raman Spectral Studies of the Effects of Perchlorate Ion on Water Structure. *J. Chem. Phys.* 52, 4176-4198, (1970).
- 214 Hare, D. E. & Sorensen, C. M. Raman spectroscopic study of bulk water supercooled to - 33°C. *J. Chem. Phys.* 93, 25-33, (1990).
- 215 Ikushima, Y., Hatakeda, K., Saito, N. & Arai, M. An in situ Raman spectroscopy study of subcritical and supercritical water: The peculiarity of hydrogen bonding near the critical point. *J. Chem. Phys.* 108, 5855-5860, (1998).

- 216 Hribar, B., Southall, N. T., Vlachy, V. & Dill, K. A. How Ions Affect the Structure of Water. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 12302-12311, **(2002)**.
- 217 Mund, C. & Zellner, R. Raman- and Mie-spectroscopic studies of the cooling behaviour of levitated, single sulfuric acid/H₂O microdroplets. *Chem. Phys. Chem.* 4, 638-645, **(2003)**.
- 218 Pagannone, M., Quagliano, L., Mattioli, L. & Mattei, G. Surface-Enhanced Raman Soectroscopy of Silver Etched by CrO₃-H₂SO₄: Study of Adsorbed Sulphate. *J. Raman Spectrosc.* 22, 825-829, **(1991)**.
- 219 Munro, C. H., Smith, W. E., Garner, M., Clarkson, J. & White, P. C. Characterization of the Surface of a Citrate-Reduced Colloid Optimized for Use as a Substrate for Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering. *Langmuir* 11, 3712-3720, **(1995)**.
- 220 Kerker, M., Siiman, O., Bumm, L. & Wang, D. Surface enhanced Raman scattering (SERS) of citrate ion adsorbed on colloidal silver. *Appl. Opt.* 19, 3253-3255, **(1980)**.
- 221 Moskovits, M. & Suh, J. Conformation of Mono- and Dicarboxylic Acids Adsorbed on Silver Surfaces. *J. Am. Chem. Soc.* 107, 6826-6829, **(1985)**.
- 222 Kai, S., Chaozhi, W. & Guangzhi, X. Surface enhanced Raman spectra of carbonate, hydrocarbonate and substituted acetic acids on silver hydrosols. *Spectrochim. Acta* 45A, 1029-1032, **(1989)**.
- 223 Mosier-Boss, P. A. & Lieberman, S. H. Detection of Nitrate and Sulfate Anions by Normal Raman Spectroscopy and SERS of Cationic-Coated, Silver Substrates. *Appl. Spectrosc.* 54, 1126-1135, **(2000)**.
- 224 Rull, F. Structural investigation of water and aqueous solutions by Raman spectroscopy. *Pure Appl. Chem.* 74, 1859-1870, **(2002)**.
- 225 Marinov, V. S. & Matsuura, H. Raman spectroscopic study of temperature dependence of water structure in aqueous solutions of a poly(oxyethylene) surfactant. *J. Mol. Struct.* 610, 105-112, **(2002)**.
- 226 Domingos, R. F., Tufenkji, N. & Wilkinson, K. J. Aggregation of titanium dioxide nanoparticles: role of a fulvic acid. *Environ. Sci. Technol.* 43, 1282-1286, **(2009)**.
- 227 Babcock, D. B. & Singer, P. C. Chlorination and coagulation of humic and fulvic acids. *J. Am. Water Works Ass.*, 149-152, **(1979)**.
- 228 Walczyk, D., Bombelli, F. B., Monopoli, M. P., Lynch, I. & Dawson, K. A. What the cell "sees" in bionanoscience. *J. Am. Chem. Soc.* 132, 5761-5768, **(2010)**.
- 229 Leszczynski, J. Bionanoscience: Nano meets bio at the interface. *Nat. Nanotechnol.* 5, 633-634, **(2010)**.
- 230 Monopoli, M. P., Walczyk, D., Campbell, A., Elia, G., Lynch, I., Bombelli, F. B. & Dawson, K. A. Physical-chemical aspects of protein corona: relevance to in vitro and in vivo biological impacts of nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.* 133, 2525-2534, **(2011)**.
- 231 Monopoli, M. P., Baldelli Bombelli, F. & Dawson, K. A. Nanoparticle coronas take shape. *Nat. Nanotechnol.* 6, 11-12, **(2011)**.
- 232 Lynch, I., Salvati, A. & Dawson, K. A. Protein-nanoparticle interactions: What does the cell see? *Nat. Nanotechnol.* 4, 546-547, **(2009)**.
- 233 Rodriguez, C. E., Fukuto, J. M., Taguchi, K., Froines, J. & Cho, A. K. The interactions of 9,10-phenanthrenequinone with glyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase (GAPDH), a potential site for toxic actions. *Chem. Biol. Interact.* 155, 97-110, **(2005)**.
- 234 Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M. V., Somasundaran, P., Klaessig, F., Castranova, V. & Thompson, M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nat. Mater.* 8, 543-557, **(2009)**.
- 235 des Rieux, A., Fievez, V., Garinot, M., Schneider, Y.-J. & Pr  at, V. Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: a mechanistic approach. *J. control. release* 116, 1-27, **(2006)**.
- 236 Yan, M., Du, J., Gu, Z., Liang, M., Hu, Y., Zhang, W., Priceman, S., Wu, L., Hong Zhou, Z., Liu, H., Segura, T., Tang, Y. & Lu, Y. A novel intracellular protein delivery platform based on single-protein nanocapsules. *Nat. Nanotechnol.* 5, 48-53, **(2009)**.

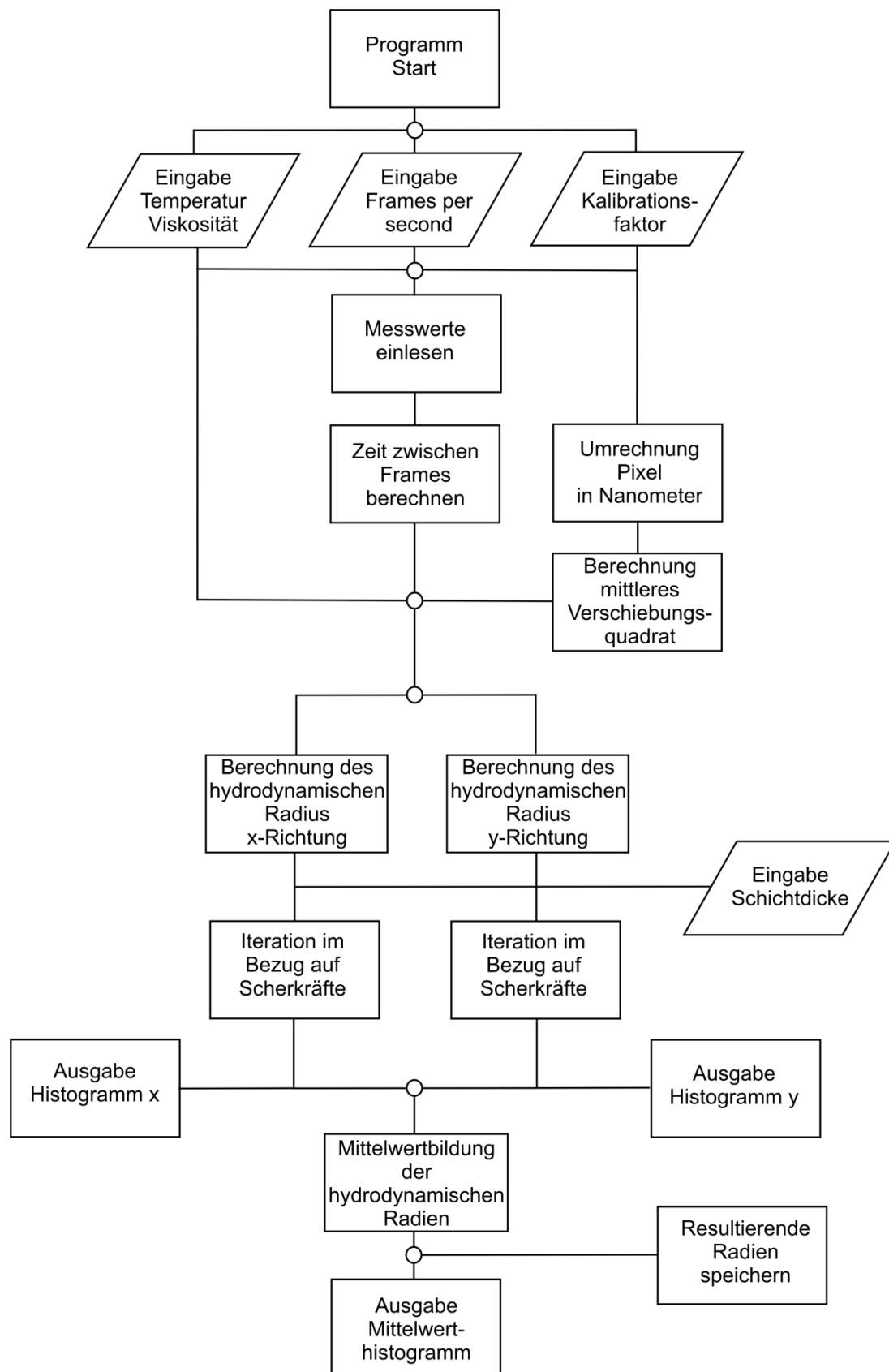
- 237 Caracciolo, G., Pozzi, D., Capriotti, A. L., Cavaliere, C. & Laganà, A. Effect of DOPE and cholesterol on the protein adsorption onto lipid nanoparticles. *J. Nanopart. Res.* 15, 1-11, (2013).
- 238 Gilbert, B., Huang, F., Zhang, H., Waychunas, G. A. & Banfield, J. F. Nanoparticles: Strained and Stiff. *Science* 305, 651-654, (2004).
- 239 Min, Y., Akbulut, M., Kristiansen, K., Golan, Y. & Israelachvili, J. The role of interparticle and external forces in nanoparticle assembly. *Nat. Mater.* 7, 527-538, (2008).
- 240 Klein, J. Probing the interactions of proteins and nanoparticles. *PNAS* 104, 2029–2030, (2007).
- 241 Smith, C. Striving for purity: advances in protein purification. *Nat. Meth.* 2, 71-77, (2005).
- 242 Peters, T. *All About Albumin - Biochemistry, Genetics, and Medical Applications*. (Academic Press, USA, 1996).
- 243 Röcker, C., Pötzl, M., Zhang, F., Parak, W. J. & Nienhaus, G. U. A quantitative fluorescence study of protein monolayer formation on colloidal nanoparticles. *Nature nanotechnology* 4, 577-580, (2009).
- 244 He, X. M. & Carter, D. C. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature* 358, 209-215, (1992).
- 245 Schaller, J., Gerber, S., Kämpfer, U., Lejon, S. & Trachsel, C. *Human Blood Plasma Proteins: Structure and Function*. (2008).
- 246 Hill, A. V. The combinations of haemoglobin with oxygen and with carbon monoxide. I. *Biochem. J.* 7, 471, (1913).
- 247 Weiss, J. N. The Hill equation revisited: uses and misuses. *FASEB J.* 11, 835-841, (1997).
- 248 Gelamo, E. L., Silvia, C. H. T. P., Imasato, H. & Tabak, M. Interaction of bovine (BSA) and human (HSA) serum albumins with ionic surfactants: spectroscopy and modelling. *BBA-PROTEIN STRUCT M* 1594, 84-99, (2002).
- 249 Goutelle, S., Maurin, M., Rougier, F., Barbaut, X., Bourguignon, L., Ducher, M. & Maire, P. The Hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 22, 633-648, (2008).
- 250 Hill, A. V. The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves. *J. Physiol.* 40, 4-7, (1910).
- 251 Jackson, B. M. *Molecular and Cellular Biophysics*. (Cambridge University Press, 2006).
- 252 Sreerama, N. & Woody, R. W. Estimation of protein secondary structure from circular dichroism spectra: comparison of CONTIN, SELCON, and CDSSTR methods with an expanded reference set. *Anal. biochem.* 287, 252-260, (2000).
- 253 Pace, C. N. Conformational stability of globular proteins. *Trends Biochem. Sci.* 15, 14-17, (1990).
- 254 Schmid, G. & Lehnert, A. The complexation of gold colloids. *Angew. Chem. Int. Ed.* 28, 780-781, (1989).
- 255 Rostek, A., Mahl, D. & Epple, M. Chemical composition of surface-functionalized gold nanoparticles. *J. Nanopart. Res.* 13, 4809-4814, (2011).
- 256 Koh, A. L., Shachaf, C. M., Elchuri, S., Nolan, G. P. & Sinclair, R. Electron microscopy localization and characterization of functionalized composite organic-inorganic SERS nanoparticles on leukemia cells. *Ultramicroscopy* 109, 111-121, (2008).
- 257 Sharma, B., Frontiera, R. R., Henry, A. I., Ringe, E. & Van Duyne, R. P. SERS: Materials, applications, and the future. *Mat. Today* 15, 16-25, (2012).
- 258 Erickson, B. E. Nanosilver pesticides. *Chem. Eng. News* 87, 25-26, (2009).
- 259 Liu, J. & Hurt, R. H. Ion Release Kinetics and Particle Persistence in Aqueous Nano-Silver Colloids. *Environ. Sci. Technol.* 44, 2169-2175, (2010).
- 260 Geranio, L., Heuberger, M. & Nowack, B. The Behavior of Silver Nanotextiles during Washing. *Environ. Sci. Technol.* 43, 8113-8118, (2009).

- 261 Peron, O., Rinnert, E., Toury, T., Lamy de la Chapelle, M. & Compere, C. Quantitative SERS sensors for environmental analysis of naphthalene. *Analyst* 136, 1018-1022, **(2011)**.
- 262 Feng, Y., Xing, S., Xu, J., Wang, H., Lim, J. W. & Chen, H. Probing the kinetics of ligand exchange on colloidal gold nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. *Dalton Trans.* 39, 349-351, **(2010)**.
- 263 Grass, S., Diendorf, J., Gebauer, J. S., Eppe, M. & Treuel, L. Quantitative replacement of citrate by phosphane on silver nanoparticle surfaces monitored by surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) (to be published **2013**).
- 264 Edsall, J. T. Raman Spectra of Amino Acids and Related Compounds IV. Ionization of Di- and Tricarboxylic Acids. *J. Chem. Phys.* 5, 508-517, **(1937)**.
- 265 Kerker, M., Siiman, O., Bumm, L. A. & Wang, D. S. Surface enhanced Raman scattering (SERS) of citrate ion adsorbed on colloidal silver. *Appl. Opt.* 19, 3253-3255, **(1980)**.
- 266 Chen, X.-L., Lei, P., Qiao, Q.-L., Zhan, L. & Yan, S.-Y. Synthesis and characterization of some hydrous TPPTS · Ln complexes (Ln = Sc, Y, La, Nd, Sm, Gd, Ho; and TPPTS = TRIS (m-sulfonatophenyl) phosphine). *Polyhedron* 17, 1381-1385, **(1998)**.
- 267 Bormann, D., Tilloy, S. & Monflier, E. Comparative Raman spectroscopy study of sulfonate-substituted triphenylphosphines. *Vib. Spectrosc.* 20, 165-172, **(1999)**.
- 268 Saxton, M. J. & Jacobson, K. Single-particle tracking: applications to membrane dynamics. *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26, 373-399, **(1997)**.
- 269 Labille, J., Feng, J., Botta, C., Borschneck, D., Sammut, M., Cabie, M., Auffan, M., Rose, J. & Bottero, J.-Y. Aging of TiO₂ nanocomposites used in sunscreen. Dispersion and fate of the degradation products in aqueous environment. *Environ. Poll.* 158, 3482-3489, **(2010)**.
- 270 Pan, Z., Lee, W., Slutsky, L., Clark, R. A., Pernodet, N. & Rafailovich, M. H. Adverse effects of titanium dioxide nanoparticles on human dermal fibroblasts and how to protect cells. *Small* 5, 511-520, **(2009)**.
- 271 Wakefield, G., Lipscomb, S., Holland, E. & Knowland, J. The effects of manganese doping on UVA absorption and free radical generation of micronised titanium dioxide and its consequences for the photostability of UVA absorbing organic sunscreen components. *Photochem. Photobio. Sci.* 3, 648-652, **(2004)**.
- 272 Kaiser, D., Wappelhorst, O., Oetken, M. & Oehlmann, J. Occurrence of widely used organic UV filters in lake and river sediments. *Env. Chem.* 9, 139-147, **(2012)**.
- 273 Sieratowicz, A., Kaiser, D., Behr, M., Oetken, M. & Oehlmann, J. Acute and chronic toxicity of four frequently used UV filter substances for *Desmodesmus subspicatus* and *Daphnia magna*. *J. Environ. Sci. Health* 46, 1311-1319, **(2001)**.

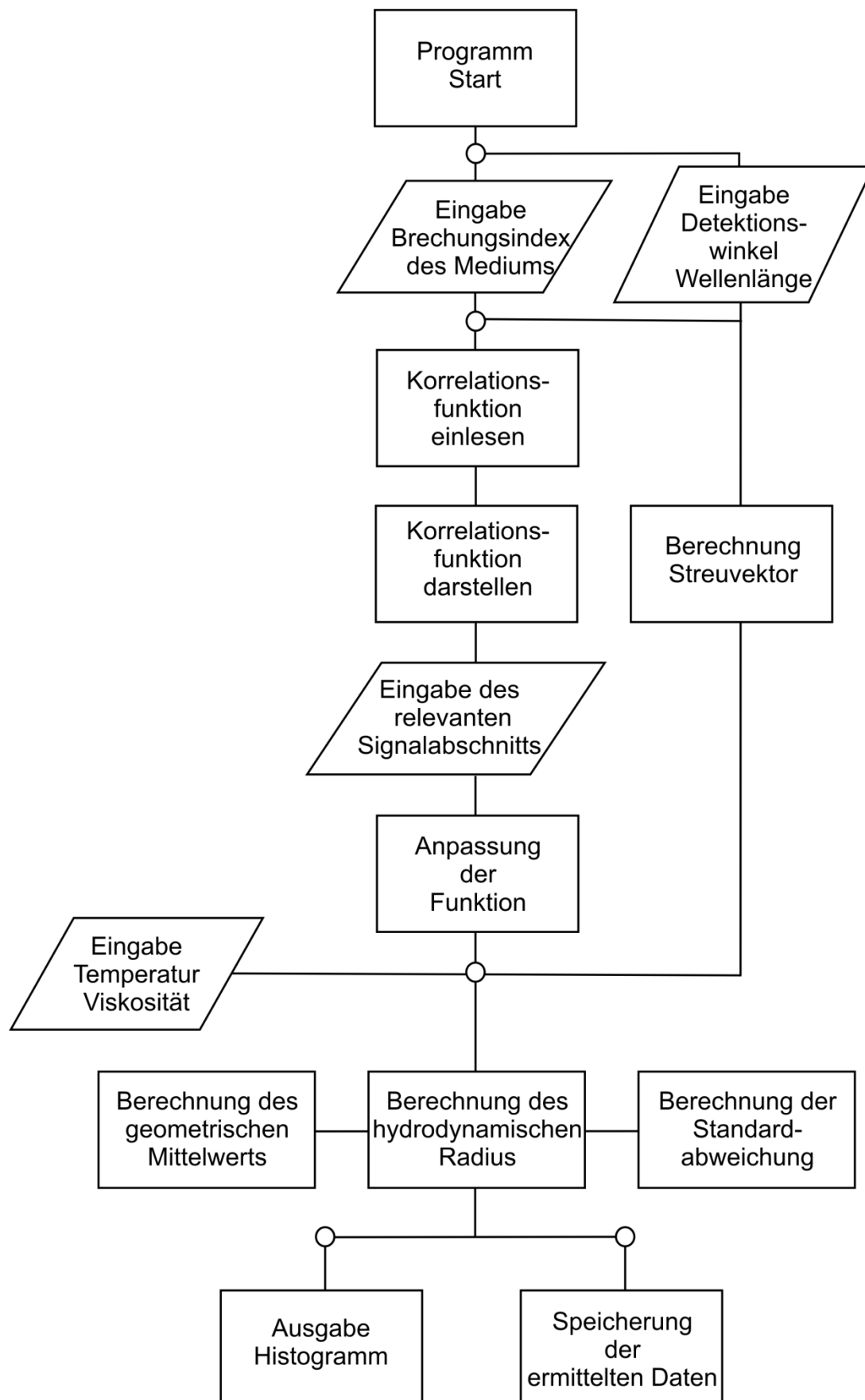
Anhang 1: Flussdiagramm der DPS-Tracking-Software



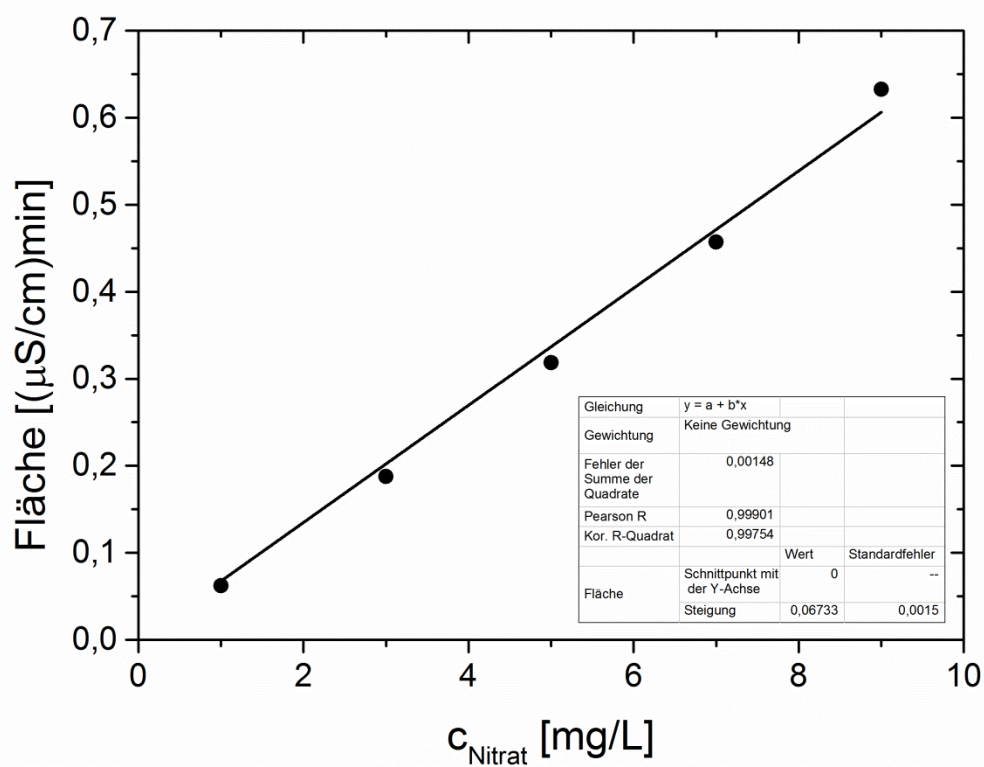
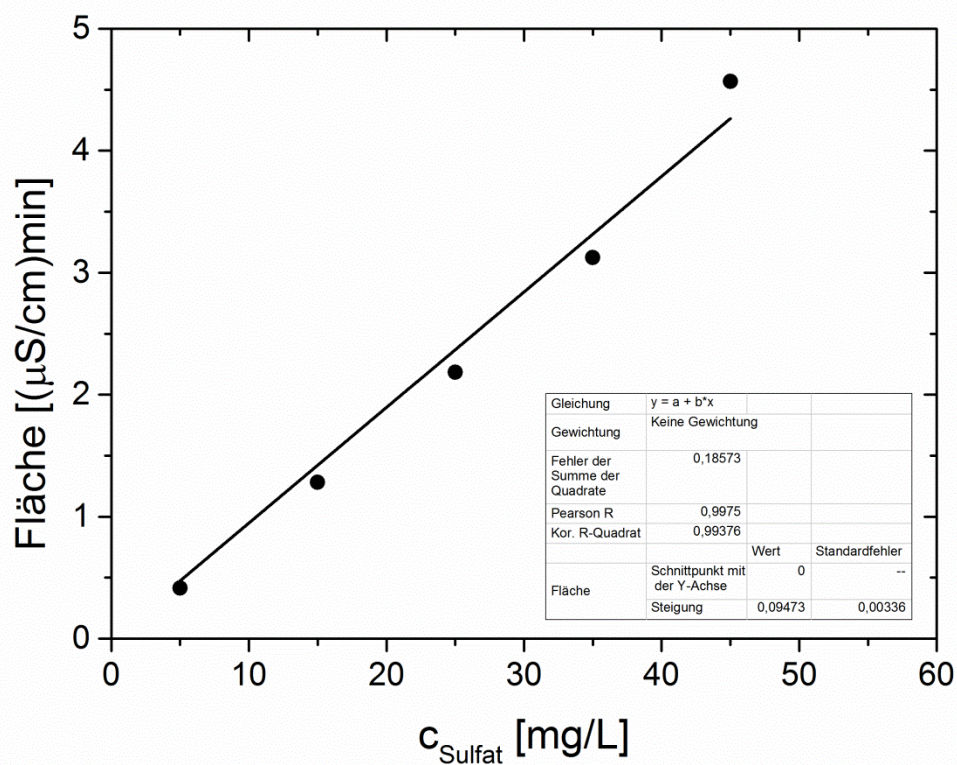
Anhang 2: Flussdiagramm der DPS-Software (Auswertung der thermischen Trajektionspfade)

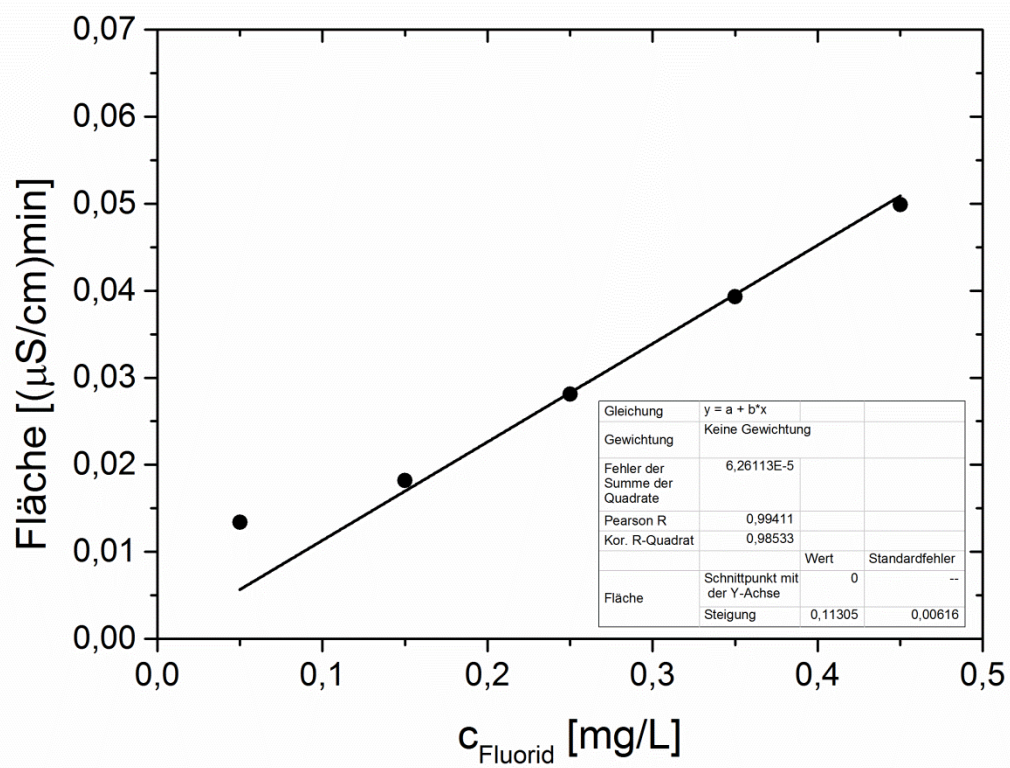
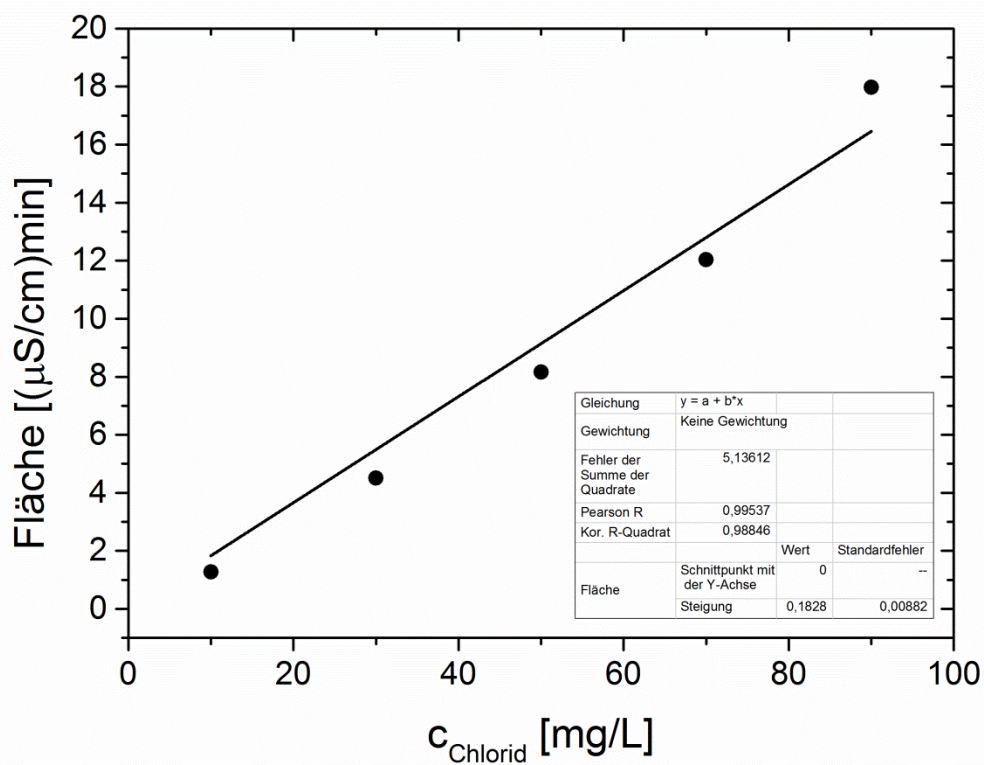


Anhang 3: Flussdiagramm der DPS-Software (Auswertung der Autokorrelationsfunktion)



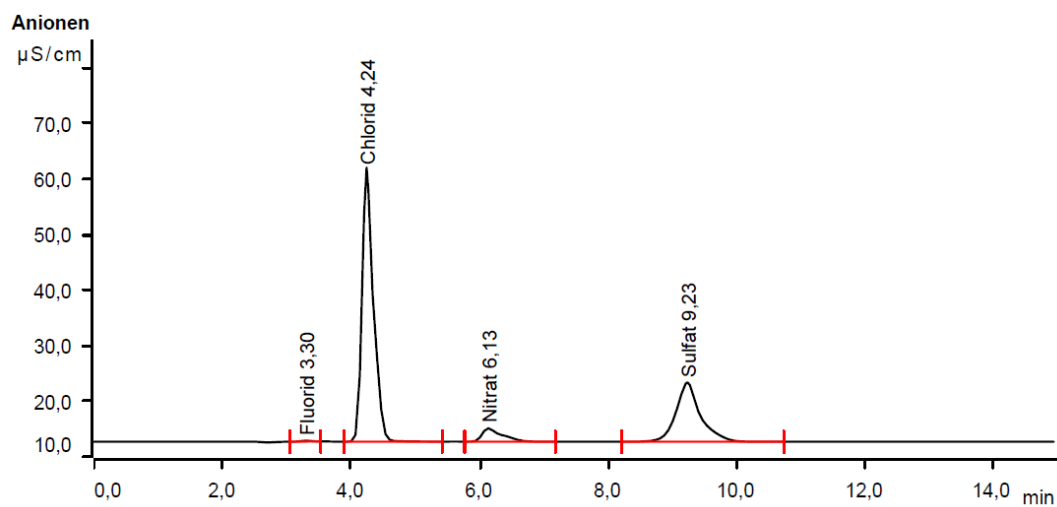
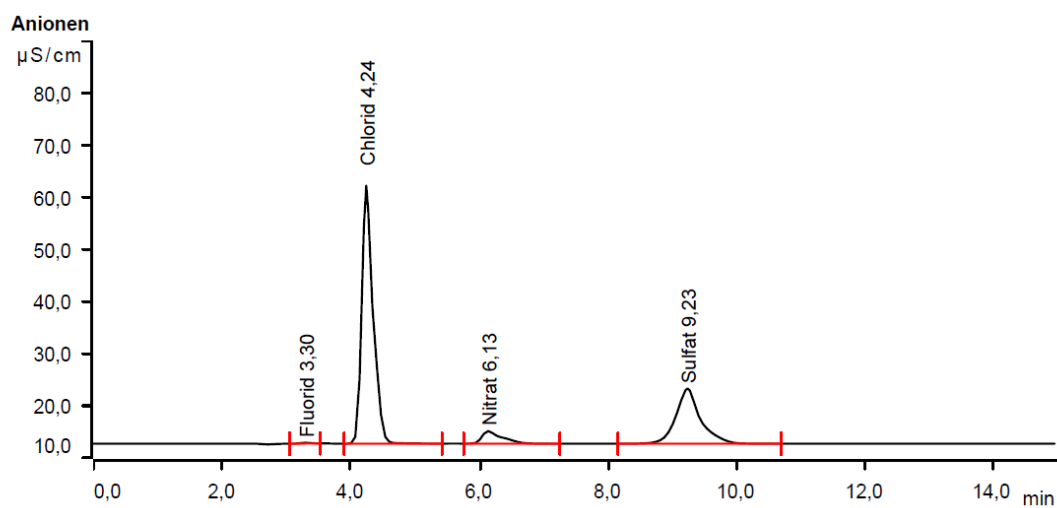
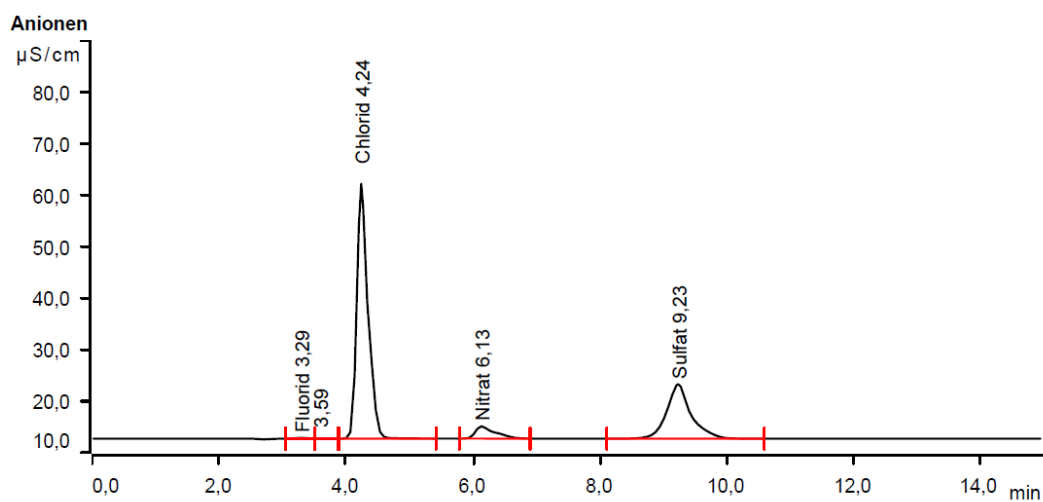
Anhang 4: Ionenchromatographie – Kalibrierung



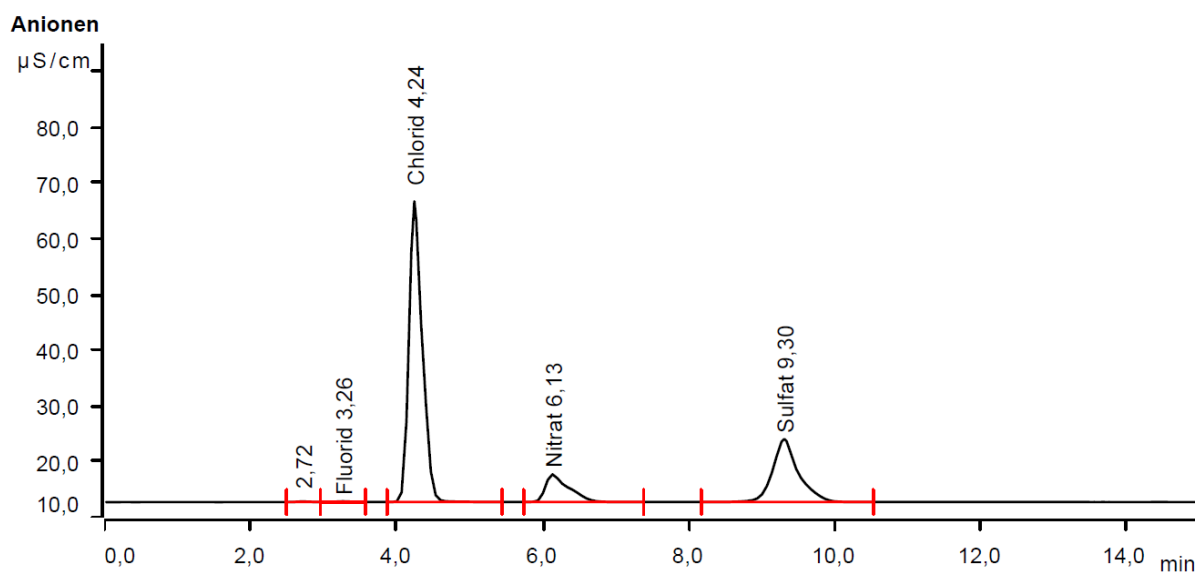
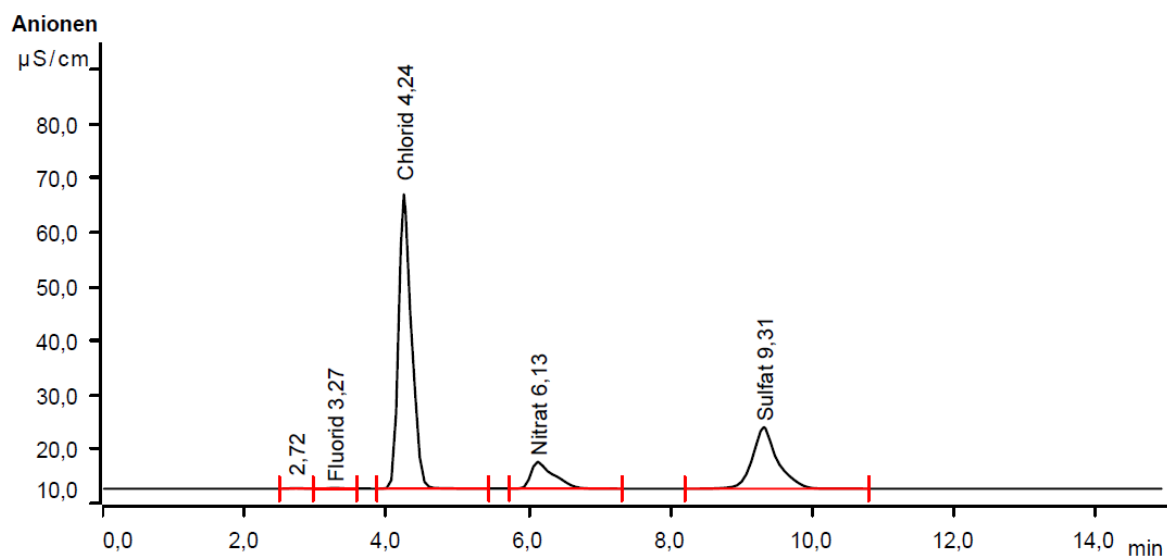
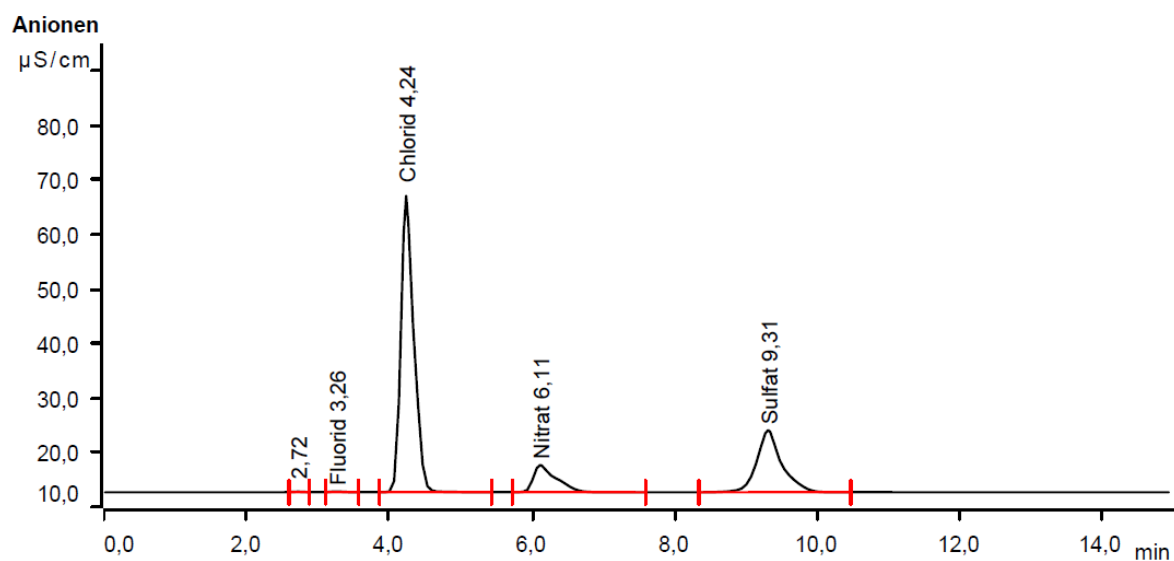


Anhang 5: Ionenchromatographie – Messergebnisse

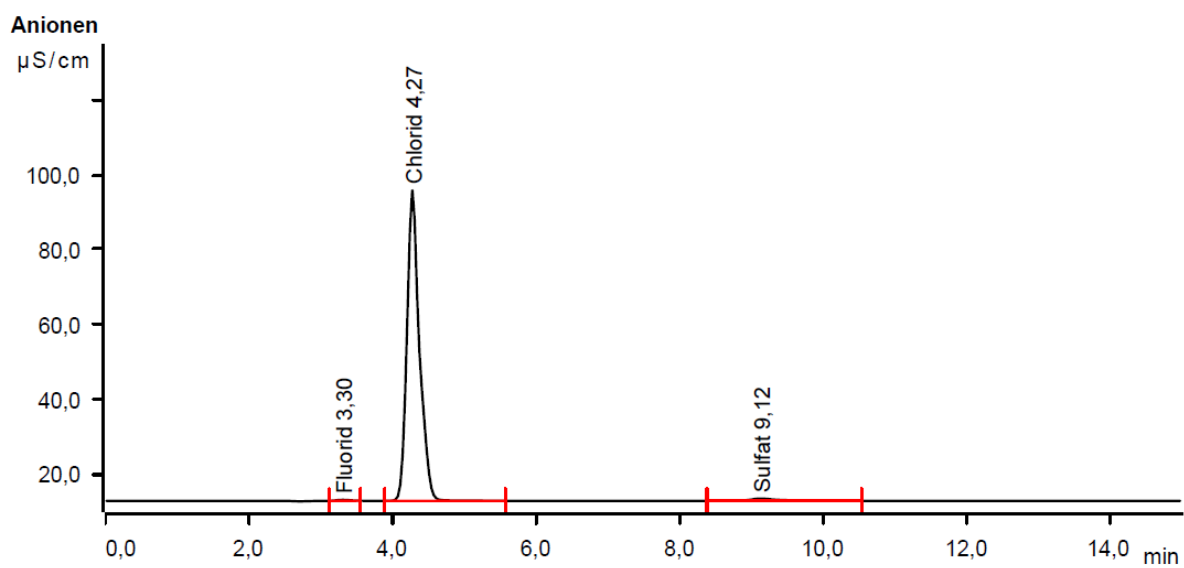
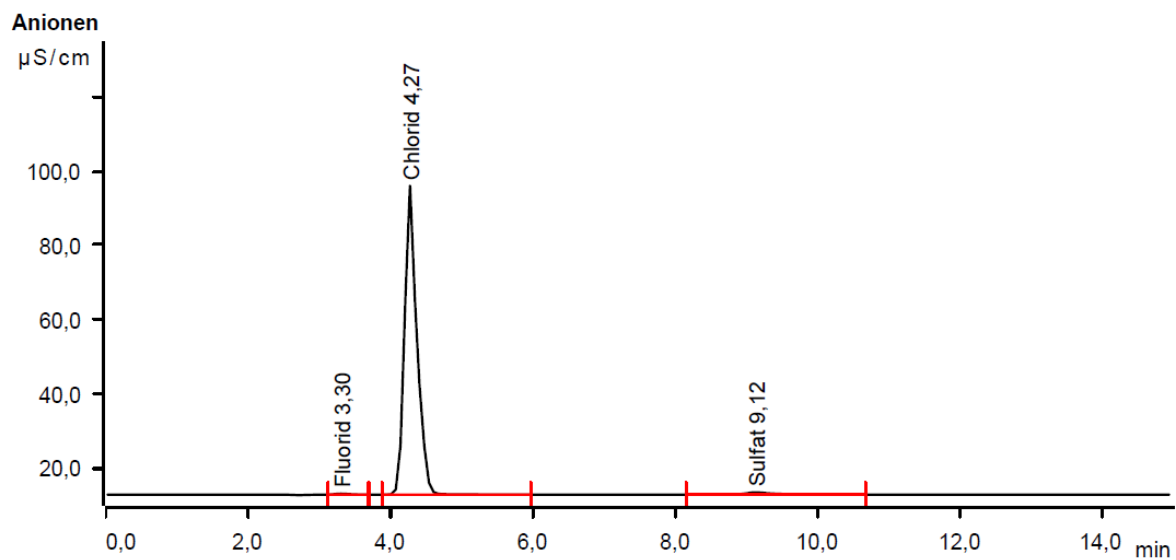
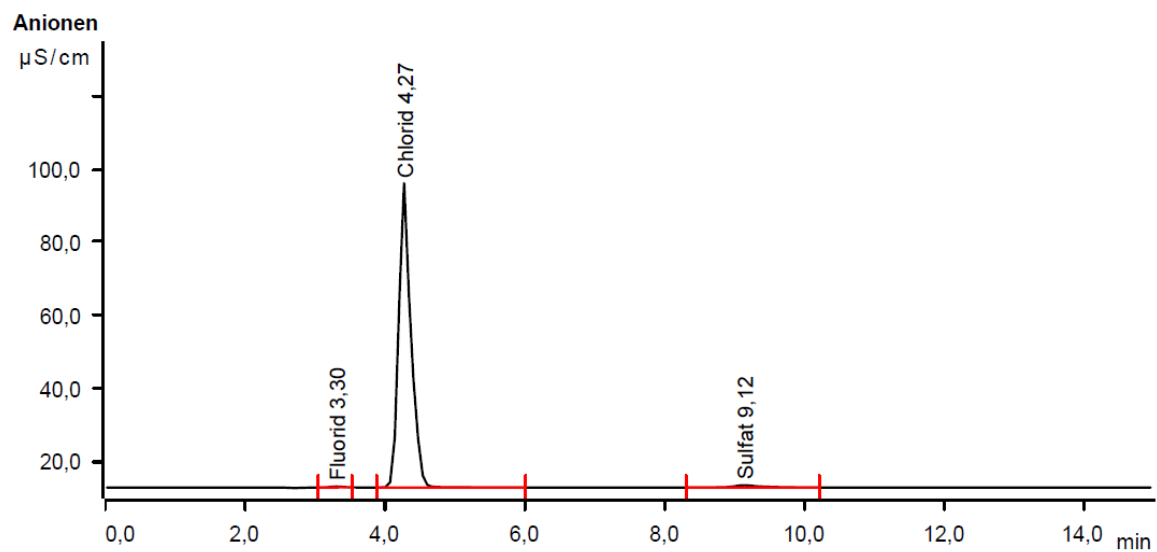
Wasserprobe Baldeney-See



Wasserprobe Rhein-Herne-Kanal



Wasserprobe Teichanlage der Universität Duisburg-Essen



Wasserprobe Volvic naturelle

